

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
14 octobre 2004 (14.10.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/087768 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C08B 37/16, A61K 47/48, 31/724

[CN/US]: 3525 Normandy Avenue, Apt.11, Dallas, TX
75205-2292 (US).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/000691

(74) Mandataires : GROSSET-FOURNIER, Chantal,
Catherine etc.; Grosset-Fournier & Demachy Sarl, 54, rue
Saint-Lazare, F-75009 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international : 22 mars 2004 (22.03.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03/03899 28 mars 2003 (28.03.2003) FR

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris
Cedex 16 (FR). UNIVERSITE JOSEPH FOURIER [FR/FR]; 621, avenue Centrale, Domaine universitaire,
F-38400 Saint-Martin D'Heres (FR). CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
(CSIC) [ES/ES]; Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).
UNIVERSIDAD DE SEVILLA [ES/ES]; Valparaíso, 5,
E-41013 Seville (ES).

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : DEFAYE,
Jacques [FR/FR]; 202, chemin du Vercors, F-38330
Saint-Ismier (FR). ORTIZ-MELLET, Carmen [ES/ES];
Monte Carmelo 71, 3D, E-41011 Seville (ES). GAR-
CIA-FERNANDEZ, José Manuel [ES/ES]; Monte
Carmelo 71, 3D, E-41011 Seville (ES). GOMEZ-GAR-
CIA, Maria [ES/ES]; Avenida Sanchez Pizjuan 27, 6A,
E-41009 Seville (ES). CHMURSKI, Kazimierz [PL/PL];
Ul. Schroegera 23, P-01-822 Varsovie (PL). YU, Jian-Xin

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: NOVEL CYCLODEXTRIN DERIVATIVES, METHOD FOR THE PREPARATION THEREOF AND USE THEREOF
FOR THE SOLUBILIZATION OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

(54) Titre : NOUVEAUX DERIVES DE CYCLODEXTRINES. LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LEUR UTILISATION
NOTAMMENT POUR LA SOLUBILISATION DE SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUEMENT ACTIVES

(57) Abstract: The invention relates to a compound corresponding to general formula (I) wherein n is a whole number from 1-6, m
is a whole number equal to 5, 6 or 7, R¹ is an OH group, all R¹s are identical, Z is an NHX group, X is a hydrogen atom, and R is a
hydrogen atom or a bioidentification element, with the proviso that the compound wherein n = 1, m = 6, Z = NH₂ and R₁ = OH is
excluded.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un composé répondant à la formule générale suivante : (I) dans laquelle n représente
un nombre entier compris de 1 à 6, m représente un nombre entier égal à 5, 6 ou 7, R¹ représente notamment un groupe OH, tous les
R¹ étant identiques, Z représente notamment un groupe NHX, X représentant notamment un atome d'hydrogène, et R représentant
notamment un atome d'hydrogène ou un élément de bio reconnaissance, sous réserve que le composé dans lequel n = 1, m = 6, Z =
NH₂ et R₁ = OH soit exclu.

WO 2004/087768 A1

NOUVEAUX DÉRIVÉS DE CYCLODEXTRINES, LEUR PROCÉDÉ DE
PRÉPARATION ET LEUR UTILISATION NOTAMMENT POUR LA
SOLUBILISATION DE SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUEMENT ACTIVES

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de cyclodextrines, ainsi que leur procédé de préparation. La présente invention concerne également l'utilisation de ces nouveaux dérivés pour la solubilisation de substances pharmacologiquement actives dans un milieu aqueux.

Les cyclodextrines, ou cyclomaltooligosaccharides, sont des oligosaccharides cycliques qui sont connus pour leur aptitude à inclure dans leur cavité des molécules diverses, de taille adaptée à celle de la structure hôte. Le caractère généralement apolaire de ces associations conduit à inclure préférentiellement des structures moléculaires de type hydrophobe, permettant notamment la solubilisation dans l'eau et les milieux biologiques de composés peu ou pas solubles dans ces milieux et éventuellement d'améliorer leur stabilisation. Ces propriétés sont actuellement utilisées en particulier pour le transport de médicaments.

La solubilité relativement faible dans l'eau des cyclodextrines, et notamment de la plus accessible d'entre elles sur le plan économique, la β -cyclodextrine (18 g/l, soit 15 mmol/l, à 25 °C) limite cependant leur utilisation dans ce but. D'un autre côté, les cyclodextrines ne possédant pas de capacité de reconnaissance vis-à-vis de récepteurs biologiques dans l'organisme, ces entités ne peuvent pas être utilisées pour le ciblage et la vectorisation de principes actifs.

Pour remédier à cet état de fait, les cyclodextrines ont été modifiées chimiquement pour améliorer leur solubilité dans l'eau d'une part et, d'autre part, pour incorporer dans leur structure des signaux de reconnaissance cellulaire. Ainsi, les demandes internationales WO 95/19994, WO 95/21870 et WO 97/33919 et la demande de brevet européen EP 0 403 366 décrivent des dérivés de cyclodextrines dont une ou plusieurs fonctions alcool primaire sont substituées par des groupes monosaccharidiques ou oligosaccharidiques via un atome d'oxygène ou de soufre ou bien via un groupement thiourée, ainsi que leur utilisation. Ces cyclodextrines ramifiées sont en particulier susceptibles de servir d'hôte pour le taxol et ses dérivés, en particulier le Taxotère®, qui sont des agents antitumoraux et antiparasitaires, comme il est décrit par P. Potier dans

Chem. Soc. Rev., 21, 1992, pp. 113-119. On obtient ainsi des complexes d'inclusion, ce qui permet de solubiliser dans l'eau ces agents antitumoraux. A titre d'exemple, la solubilité dans l'eau du Taxotère® qui est 0,004 g/l, peut être augmentée jusqu'à 6,5 g/L par addition de 6^l-S- α -maltosyl-6^l-thiocyclomaltoheptaose à sa suspension aqueuse, comme cela est décrit dans le document WO 95/19994.

Le document EP-A-0 605 753 décrit des complexes d'inclusion du taxol utilisant des cyclodextrines ramifiées telles que les maltosyl-cyclodextrines, pour augmenter la solubilité de ce composé dans l'eau.

Des dérivés de cyclodextrines comportant un ou plusieurs substituants glycosyle ou maltosyle liés à la cyclodextrine par un atome de soufre sont également décrits par V. Lainé et al. dans *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2, 1995, pp. 1479-1487. Ces dérivés ont été utilisés pour solubiliser un antiinflammatoire tel que la prédnisolone.

Le document WO 97/33919 décrit les procédés de préparation des thiouréido-cyclodextrines par couplage des 6^l-amino-6^l-désoxycyclodextrines ou encore des dérivés peraminés correspondants avec des isothiocyanates d'alkyle ou des mono- ou oligosacharides.

L'incorporation de substituants glucidiques sur les cyclodextrines conduit à des dérivés dotés d'une solubilité dans l'eau beaucoup plus élevée si on la compare à la cyclodextrine de départ. En même temps, cette approche permet de conférer à la cyclodextrine une affinité particulière pour certains sites biologiques, car les substituants glucidiques sont bien connus comme marqueurs de reconnaissance cellulaire. Ainsi, ce type de modification de la cyclodextrine peut permettre le ciblage et la vectorisation d'une substance active incluse dans la cyclodextrine.

L'affinité d'un marqueur glucidique pour un récepteur¹ spécifique de membrane cellulaire (lectine) est en règle générale faible. Pour atteindre des affinités utiles pour le ciblage et la vectorisation, il faut envisager une présentation multiple et simultanée du ligand. Dans le cas de dérivés des cyclodextrines monosubstitués en position alcool primaire (c'est-à-dire des cyclodextrines dans lesquelles l'un des groupes OH de l'alcool primaire est substitué), ce problème peut être partiellement résolu par l'incorporation de structures glycérophthaliques, comme décrit par I. Baussanne et al. dans *Chem. Commun*, 2000, pp. 1489-1490. Cependant, le procédé de préparation de tels composés est compliqué.

Par ailleurs, les résultats récents décrits par I. Baussanne et al. dans *ChemBioChem* 2001, pp. 777-783 montrent que les dérivés de la β -cyclodextrine

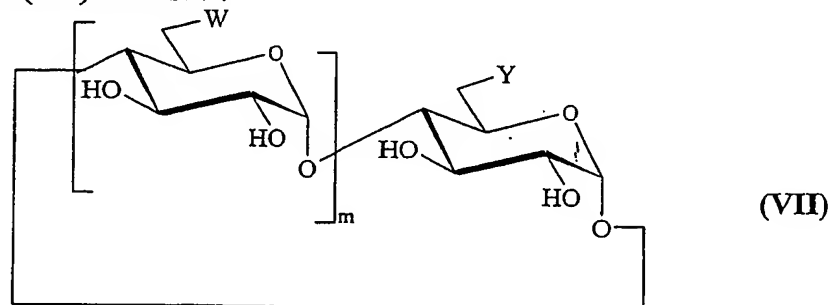
comportant des substituants de type glycosylthiouréido, obtenues à partir de la per-(C-6)-amine correspondante, ne montrent pas une affinité suffisante vis-à-vis des lectines complémentaires.

A ce jour, il n'existe aucun dérivé de cyclodextrine, mono ou polysubstitué, obtenu par un procédé simple, permettant d'augmenter la solubilisation de substances pharmacologiquement actives et présentant également une affinité suffisante vis-à-vis des lectines complémentaires.

Un des buts de la présente invention est de fournir de nouveaux dérivés de cyclodextrines, polysubstitués mais également monosubstitués, en position alcool primaire, présentant non seulement un intérêt pour la solubilisation des substances actives, en particulier des antitumoraux de la famille du taxol comme le Taxotere®, mais également une forte affinité vis à vis de récepteurs membranaires spécifiques, ce qui permet d'envisager par leur intermédiaire un transport efficace et sélectif de la substance active vers des organes cibles.

Un des buts de l'invention consiste à fournir un procédé de préparation simple à mettre en œuvre, et permettant d'obtenir de nouveaux dérivés de cyclodextrines avec un bon rendement de l'ordre d'au moins 50%, et de préférence 70%, sans avoir à effectuer de purifications longues et compliquées.

La présente invention concerne l'utilisation d'un procédé comprenant une étape de réaction d'un composé sélectivement ou totalement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m représentant un nombre entier égal à 5, 6 ou 7,

W représentant un groupe OH ou un groupe Y, les groupes W étant tous identiques,

et Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

avec un ω -aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,

ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :



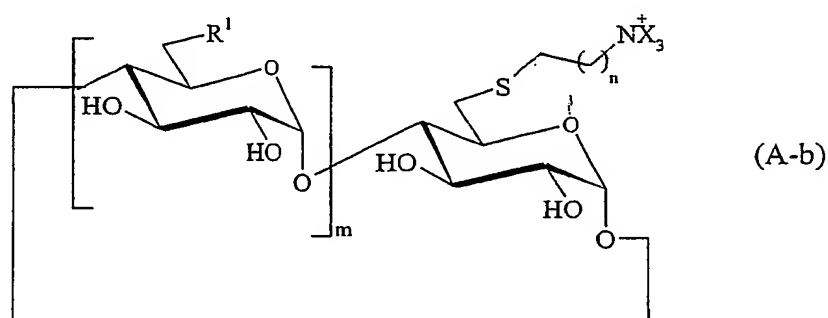
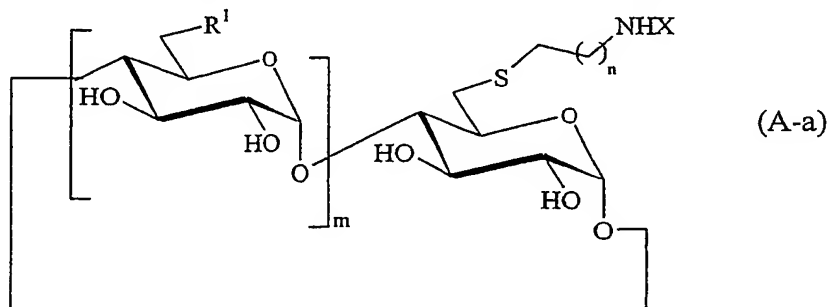
ledit sel étant associé à un contre-ion halogénure, de préférence l'ion chlorure,

n représentant un nombre entier compris de 1 à 6,

X représentant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, et étant notamment un groupe méthyle, éthyle, propyle ou butyle, X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

afin d'obtenir un composé répondant aux formules suivantes (A-a) ou (A-b) :

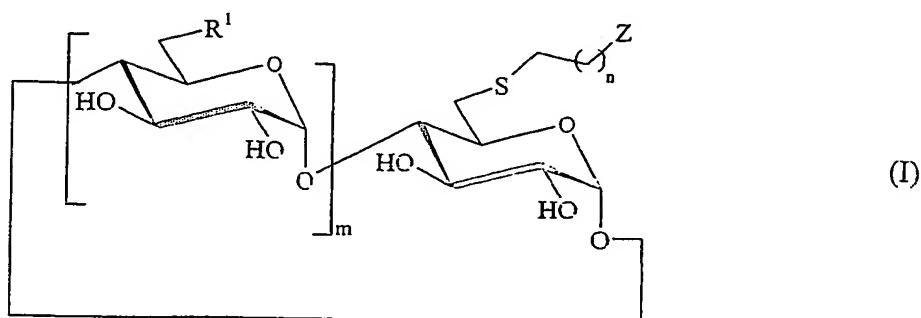


R^1 représentant soit un groupe OH soit un groupe $-\text{S}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{Z}$, tous les R^1 étant identiques,

Z représentant un groupe NHX ou un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+\text{NX}_3$,

m, n et X étant tels que définis ci-dessus,

pour la préparation de composés de formule (I) suivante :



dans laquelle :

- 10
- m , n et R^1 sont tels que définis ci-dessus, et
 - Z représente soit :
 - * un groupe NHX ,
 - * un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+NX_3$,
 - * un groupe $NX-C(=S)-NHR$,

15

X étant tel que défini ci-dessus, et

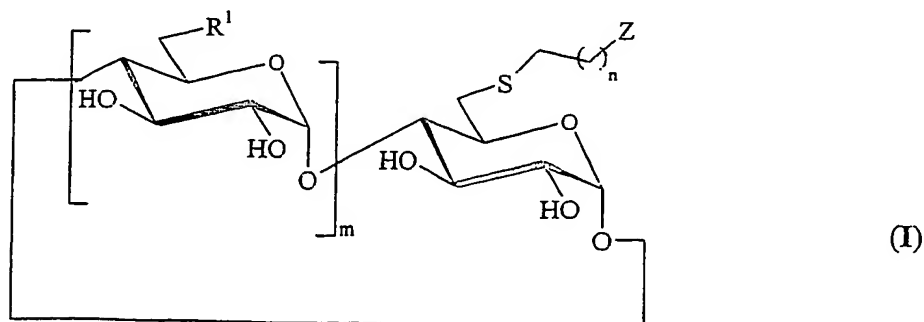
R représentant un atome d'hydrogène, un substituant alkyle de 1 à 12 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou un groupe aromatique tel que le groupe phényle, benzyle ou naphthyle, ou des dérivés de ces groupements portant des substituants sur le cycle aromatique tels que les substituants méthyle, éthyle, chlore, brome, iode, nitro, hydroxyle, méthoxyle ou acétamido,

20

ou R représentant un élément de biorecognition tel qu'un dérivé d'acide aminé, un peptide, un monosaccharide, un oligosaccharide, un élément de multiplication à plusieurs ramifications comportant des groupements glucidiques qui peuvent être identiques ou différents, ou une sonde de visualisation ou de détection fluorescente ou radioactive.

25

La présente invention concerne un composé répondant à la formule générale suivante :



dans laquelle :

- n représente un nombre entier compris de 1 à 6 ;
- m représente un nombre entier égal à 5, 6 ou 7 ;
- R^1 représente soit un groupe OH soit un groupe $-S-CH_2-(CH_2)_n-Z$, tous les R^1 étant identiques ;
- Z représente soit :

- * un groupe NHX,
- * un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+NX_3$,
- * un groupe $NX-C(=S)NHR$,

X représentant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, et étant notamment un groupe méthyle, éthyle, propyle ou butyle, et

R représentant un atome d'hydrogène, un substituant alkyle de 1 à 12 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou un groupe aromatique tel que le groupe phényle, benzyle ou naphthyle, ou des dérivés de ces groupements portant des substituants sur le cycle aromatique tels que les substituants méthyle, éthyle, chlore, brome, iode, nitro, hydroxyle, méthoxyle ou acétamido,

ou R représentant un élément de biorecognition tel qu'un dérivé d'acide aminé, un peptide, un monosaccharide, un oligosaccharide, un élément de multiplication à plusieurs ramifications, lesquelles ramifications comportent des groupements glucidiques qui peuvent être identiques ou différents, ou une sonde de visualisation ou de détection fluorescente ou radioactive,

sous réserve que le composé dans lequel $n = 1$, $m = 6$, $Z = NH_2$ et $R_1 = OH$ soit exclu.

L'expression "élément de biorecognition" désigne une structure moléculaire complémentaire d'un récepteur biologique, susceptible d'être reconnue par ce dernier et de conduire à une réponse spécifique : induction et régulation de la biosynthèse d'une enzyme, inhibition de l'activité d'une enzyme par fixation sur son site actif, induction d'une réponse immunitaire suite à une affection bactérienne, inhibition d'un processus inflammatoire par blocage du site actif d'une sélectine, etc.

L'expression "élément de multiplication à plusieurs ramifications" désigne notamment une chaîne carbonée ramifiée comprenant un carbone quaternaire tétrasubstitué comme les dérivés du tris(2-aminométhyl)méthylamine (TRIS) et du pentaérythritol.

5 L'expression "sonde de visualisation ou de détection fluorescente ou radioactive" désigne une structure moléculaire permettant la détection d'un système par une technique physicochimique, telle que la fluorescence ou la radioactivité. Parmi les sondes fluorescentes, on peut notamment citer les dérivés de la fluorescéine, du dansyle (5-(diméthylamino)-1-naphtalènesulfonyl) ou de la coumarine. Parmi les sondes
10 radioactives, on peut citer les produits marqués par un isotope radioactif.

La formule (I) susmentionnée concerne à la fois les composés poly- et monosubstitués sur le cycle cyclodextrine. Les composés monosubstitués correspondent à la formule (I) dans laquelle R^1 représente OH et les composés polysubstitués correspondent à la formule (I) dans laquelle R^1 représente $-S-CH_2-(CH_2)_n-Z$.

15 Dans ces nouveaux dérivés, on a constaté que la présence d'un groupe espaceur du type cystéaminyle ou, plus généralement, d'un groupe espaceur dérivé d'un ω -aminoalcanethiol, entre la position alcool primaire de la cyclodextrine et le groupe Z, est intéressante, notamment d'une part pour augmenter la réactivité des groupements amine dans le cas des composés répondant à la formule (I), Z représentant NHX, et
20 d'autre part pour garantir l'efficacité du phénomène de reconnaissance cellulaire dans le cas des dérivés répondant à la formule (I), Z représentant un groupe thiourée. Il est à noter par ailleurs que ce groupe espaceur est introduit d'une façon simple en utilisant la cystéamine commerciale ou l' ω -aminoalcanethiol homologue correspondant comme réactif, ce qui évite notamment l'étape de réduction nécessaire lorsque les groupements
25 amine sont préparés à partir d'un précurseur de type azide comme c'est le cas dans les exemples décrits dans le document WO 97/33919 susmentionné.

Il faut noter que le produit de formule (I) dans lequel m est égal à 6, R_1 représente OH et Z représente NH_2 a été préparé précédemment par réaction du 6^I-O-tosylcyclomaltoheptaose dans la N,N-diméthylformamide avec la cystéamine à
30 température ambiante avec un rendement non précisé (Y. Nagata et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1994, 67, 495-499) ou encore par réaction de ce même tosylate avec le chlorhydrate de cystéamine dans un mélange eau-diméthylformamide à 60°C en présence d'hydrogénocarbonate de sodium avec un rendement de 43% (B. Ekberg et al., *Carbohydr. Res.*, 1992, 192, 111-117). Dans le cadre de la présente invention, ce

produit a été utilisé comme intermédiaire de synthèse pour l'obtention des thiouréidocystéaminyl cyclodextrines correspondantes. Il a été trouvé avantageux de le préparer par réaction d'un précurseur monohalogéné en C-6 de la β -cyclodextrine, de préférence le bromure, avec le chlorhydrate de cystéamine dans la N,N-diméthylformamide en présence de triéthylamine (rendement 85%). Eventuellement, le groupement amine de la cystéamine ou de l' ω -aminoalcanethiol peut porter un substituant alkyle tel qu'un groupe méthyle, éthyle, propyle ou butyle. Ce groupement espaceur préfonctionalisé permet d'associer la cyclodextrine à un motif hydrophile et de reconnaissance cellulaire tel qu'un dérivé glucidique, ou encore un acide aminé ou un peptide, par des liaisons de type thiourée, amide et thioéther qui sont très stables et donnent lieu à des structures bien définies. La liaison thiourée est créée dans une dernière étape et permet de coupler la cyclodextrine à de nombreux substituants, en particulier des substituants comportant un élément de multiplication à plusieurs ramifications, lesdites ramifications portant divers motifs glucidiques ou même une sonde de visualisation ou de détection fluorescente ou radioactive.

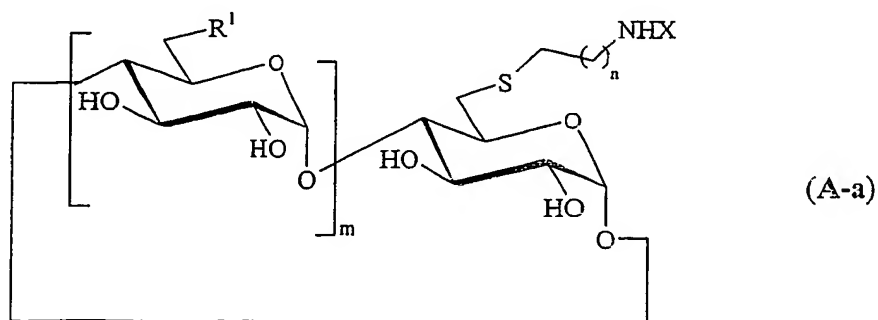
Les cystéaminyl-cyclodextrines répondant à la formule (I) donnée ci-dessus dans laquelle Z représente un groupement amine du type NHX (X = H ou substituant alkyle) peuvent être isolées sous forme de sel d'ammonium (cas où Z représente $^+NX_3$) ou de base libre (cas où Z représente NHX). Dans le cas du sel, le contre-ion est un anion monovalent, en particulier un halogénure tel que le chlorure, le bromure ou l'iodure. C'est en particulier le cas pour les cystéaminyl-cyclodextrines répondant à la formule (I) dans laquelle Z représente un groupement ammonium quaternaire, chargé positivement, du type $^+NX_3$ (X = substituant alkyle). Les composés de formule (I), dans laquelle Z représente NHX, peuvent être utilisés comme précurseurs dans la préparation des thiouréidocystéaminyl-cyclodextrines, notamment des dérivés hyperramifiés. Lorsque Z dans la formule (I) représente un groupement NH_2 , les thiourées obtenues sont N,N'-disubstituées, alors que lorsque Z représente un groupement NHX, X représentant un substituant alkyle, tel que méthyle, éthyle, propyle ou butyle, les thiourées obtenues sont N,N,N'-trisubstituées.

Dans le cas des thiouréidocystéaminyl-cyclodextrines de formule (I), dans laquelle Z représente un groupe thiourée, les substituants R peuvent être de divers types. Ainsi, R peut représenter un atome d'hydrogène, un substituant alkyle de 1 à 12 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou un groupe aromatique tel que phényle, benzyle naphthyle ou des dérivés de ces groupements portant des substituants sur le cycle

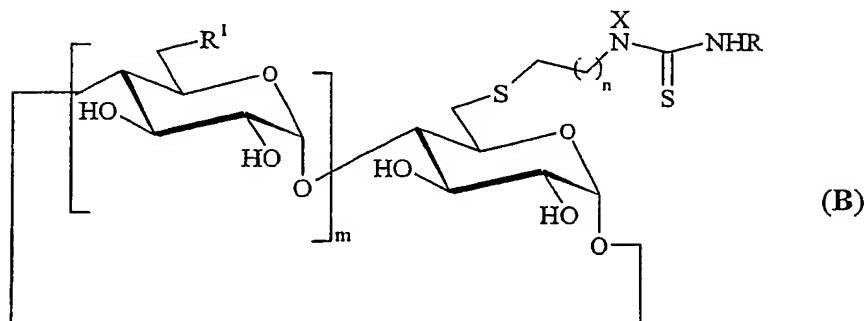
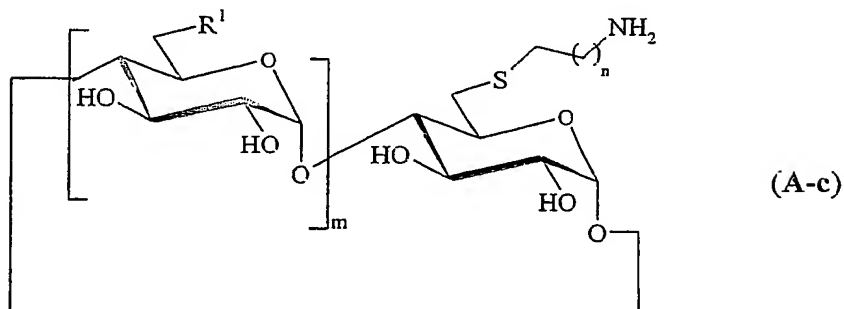
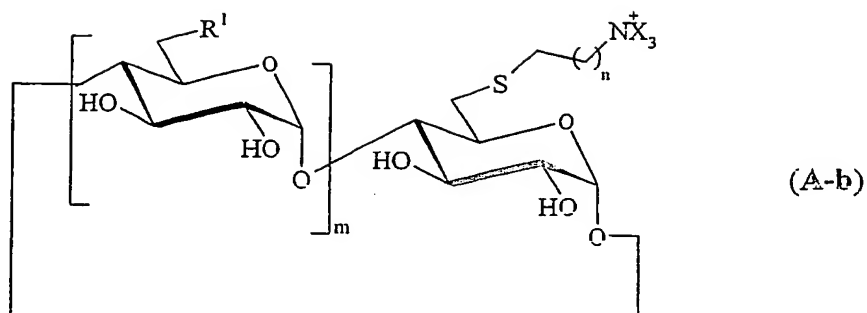
aromatique, lesdits substituants étant tels que définis précédemment. R peut représenter aussi, en particulier, des groupes dérivés d'acides aminés, de peptides, de monosaccharides ou d'oligosaccharides éventuellement substitués. A titre d'exemple de groupes dérivés de monosaccharides, on peut citer ceux dérivés du glucose, du mannose et du galactose, en configuration anomérique α ou β . Dans le cas où le groupe dérivé du monosaccharide est substitué, un ou plusieurs des groupes hydroxyle du monosaccharide peuvent être remplacés par des groupes alcoxy de 1 à 16 atomes de carbone, des groupes acyloxy comme le groupe acétoxy, des groupes amine et amide. Les groupes dérivés d'oligosaccharides peuvent être les groupes maltosyle, maltotriosyle, lactosyle, ou encore des tri- ou tétrasaccharides marqueurs d'affinité cellulaire du type Lewis X ou sialyl Lewis X, ou encore des oligosaccharides dérivés de l'héparine. Ils peuvent également être substitués par des groupes alcoxy, acyloxy, des groupements aminés, sulfatés ou phosphatés.

Selon l'invention, R peut également représenter un groupe comportant un élément de multiplication ramifié, par exemple un groupe dérivé du tris(2-hydroxyméthyl)méthylamine (TRIS) ou du pentaérythritol, comportant dans les ramifications des groupes dérivés de mono- ou d'oligosaccharides qui peuvent être identiques ou différents. A titre d'exemples, on peut citer les groupes dérivés de mono- ou oligosaccharides déjà cités dans le paragraphe précédent, qui peuvent également comporter des substituants oxygénés ou aminés. Ces groupes glucidiques peuvent être liés à l'élément de multiplication par une liaison oxygénée, soufrée ou aminée. Dans le cas où R comprend un élément de ramification, une des ramifications peut aussi porter une sonde de type fluorescent, en particulier un dérivé de la fluorescéine ou encore une sonde radioactive.

Selon un mode de réalisation avantageux, les composés de l'invention répondent à l'une des formules suivantes :

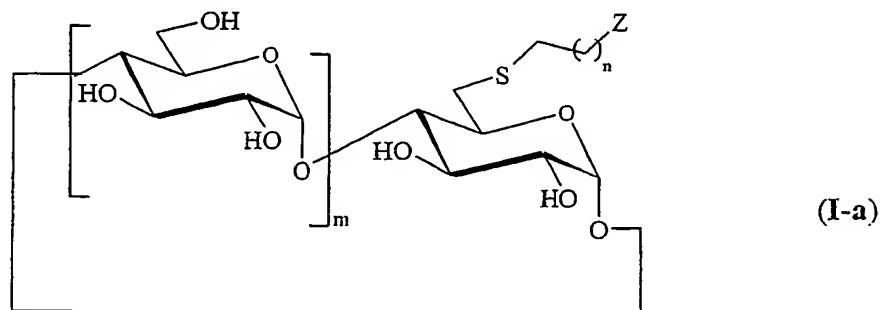


10



dans lesquelles m , n , R^1 , X et R sont tels que définis précédemment.

Un composé avantageux de la présente invention est caractérisé en ce que R^1 représente OH, et répond à la formule générale suivante :



dans laquelle :

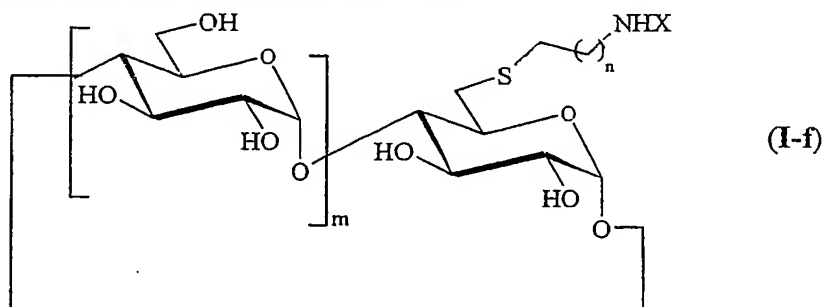
— m , n et Z sont tels que définis ci-dessus.

Les composés susmentionnés sont des composés monosubstitués sur le cycle cyclodextrine.

Dans ce type de composés, l'accès à la cavité de la cyclodextrine est moins encombré que dans le cas des composés de l'art antérieur, ce qui peut résulter en de meilleures propriétés de complexation pour certaines molécules invitées.

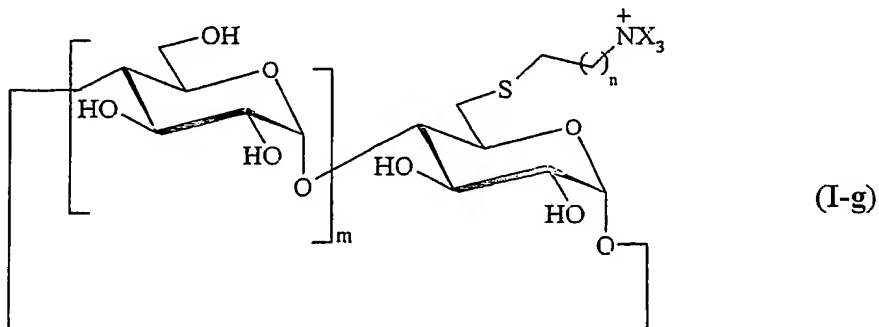
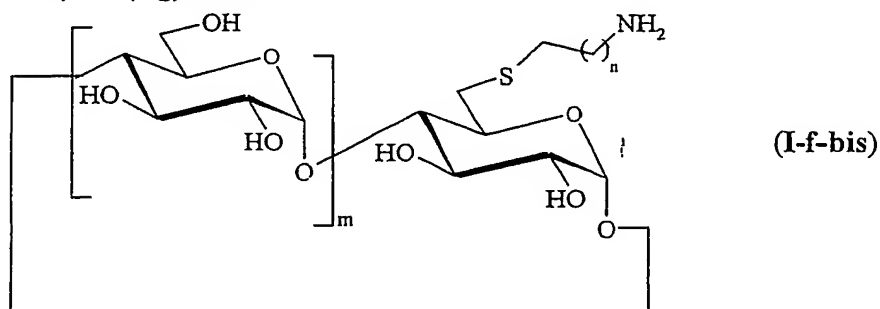
Un composé avantageux de la présente invention, répondant à la formule (I-a), est caractérisé en ce que Z représente un groupe NHX , X étant tel que défini ci-dessus, et étant notamment un atome d'hydrogène.

De tels composés répondent à la formule suivante :



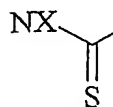
Les composés susmentionnés peuvent servir d'intermédiaire de réaction lorsque X représente un atome d'hydrogène, afin d'obtenir les composés de formule (I-a) dans laquelle Z représente un groupe thiourée.

Un composé avantageux de la présente invention, répondant à la formule (I-a), est caractérisé en ce que Z représente un groupe NH_2 ou un groupe NX_3^+ et répond à l'une des formules (I-f-bis) ou (I-g) suivantes :



dans lesquelles m, n et X sont tels que définis précédemment.

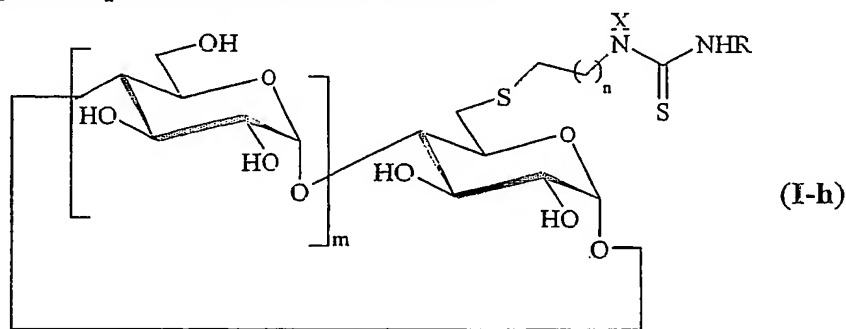
Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, répondant à la formule (I-a) et caractérisé en ce que Z représente un groupe



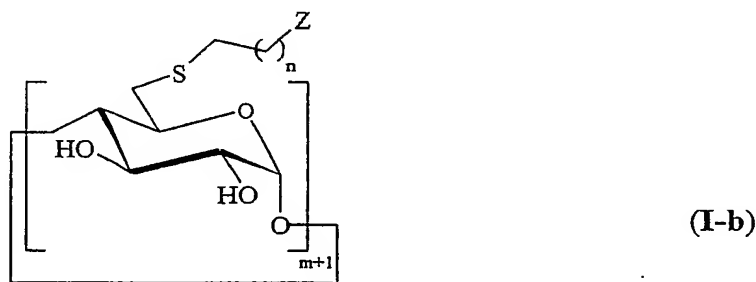
, R étant tel que défini ci-dessus, et X étant tel que défini ci-dessus, et

étant notamment un atome d'hydrogène.

De tels composés répondent à la formule suivante :



Un composé avantageux selon la présente invention est un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que R^1 représente un groupe $-S-CH_2-(CH_2)_n-Z$, et répondant à la formule générale suivante (I-b) :

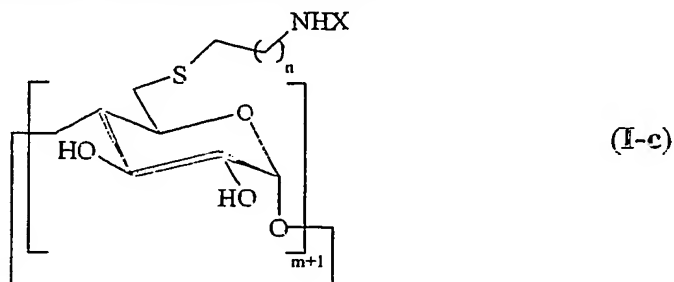


dans laquelle m, n et Z sont tels que définis ci-dessus.

Les composés susmentionnés sont des composés polysubstitués sur le cycle cyclodextrine.

Dans de telles structures, les éléments de biorecognition incorporés sont multipliés par rapport aux dérivés monosubstitués, ce qui, dans le cas des composés de l'invention, peut se traduire par de meilleures affinités vis-à-vis des récepteurs biologiques. Pour les dérivés hyperramifiés, de nouvelles propriétés supramoléculaires (donc de transport) sont envisageables du fait de la possibilité d'extension de la cavité de la cyclodextrine par les substituants en C-6.

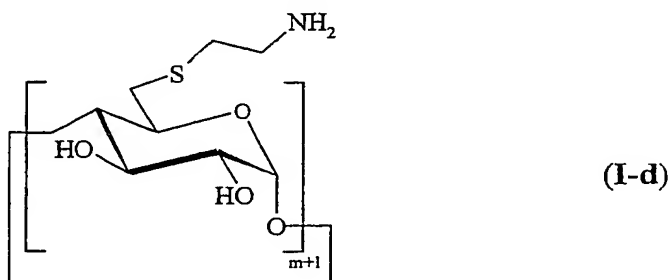
Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, de formule (I-b), répondant à la formule suivante :



X, n et m étant tels que définis ci-dessus.

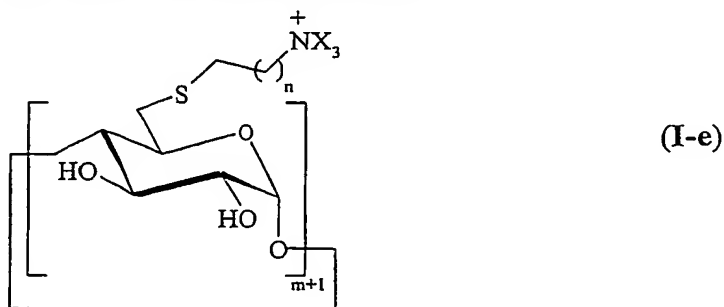
10 Les composés de formule (I-c) sont des composés dérivés de la cyclodextrine, nommés composés cystéaminylcyclodextrines, et peuvent servir d'intermédiaire de réaction, lorsque X représente un atome d'hydrogène, afin d'obtenir les composés de formule (I-b) dans laquelle Z représente un groupe thiourée.

15 Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, de formule (I-b), caractérisé en ce que X représente un atome d'hydrogène et en ce que n est égal à 1, et répondant à la formule suivante :



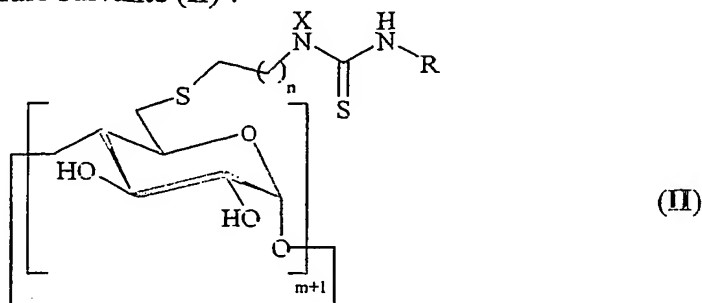
m étant tel que défini ci-dessus.

25 Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, de formule (I-b), répondant à la formule suivante :



X, n et m étant tels que définis ci-dessus.

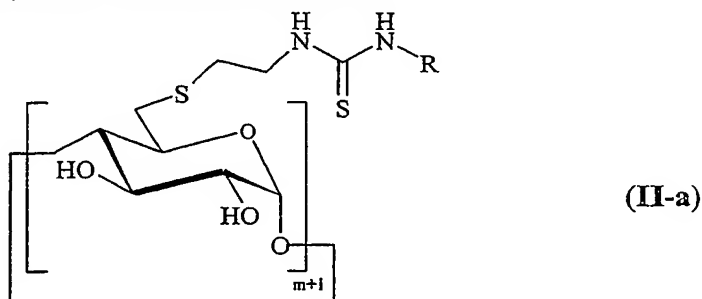
Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, répondant à la formule suivante (II) :



X, n, m et R étant tels que définis ci-dessus, et R étant identique pour chaque groupe $\text{NX}-\text{C}(=\text{S})-\text{NHR}$ tel que défini ci-dessus.

Les composés de formule (II) sont des composés dérivés de la cyclodextrine, nommés composés thiouréidocystéaminylcyclodextrines.

Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, de formule (II), caractérisé en ce que X représente un atome d'hydrogène et en ce que n est égal à 1, et répondant à la formule suivante :

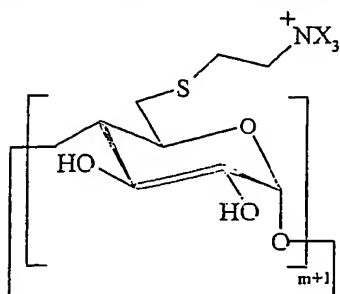


R et m étant tels que définis ci-dessus.

Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'un au moins des groupes NHX tels que définis ci-dessus est protoné et associé à un anion monovalent choisi notamment parmi l'ion chlorure, bromure ou iodure.

La présente invention concerne également un composé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que n est égal à 1 et en ce que le groupe Z représente le groupe ammonium quaternaire $^+\text{NX}_3$, et en ce qu'il peut être associé à un anion monovalent

choisi notamment parmi l'ion chlorure, bromure ou iodure, et répondant à la formule suivante :

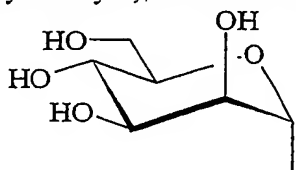


(I-e-bis)

Ces produits chargés positivement peuvent présenter des interactions électrostatiques favorables avec des molécules chargées négativement telles que des polynucléotides. De ce point de vue, on peut envisager une application de ces dérivés comme vecteurs pour le transfert de gènes. Par ailleurs, comme cela est décrit par J. Defaye et coll. (*J. Incl. Phen. Mol. Recogn. Chem.* 29 (1997) 57-63), on sait que la présence d'un groupement chargé positivement en C-6 des cyclodextrines décroît le caractère hémolytique de ces entités, et donc leur toxicité.

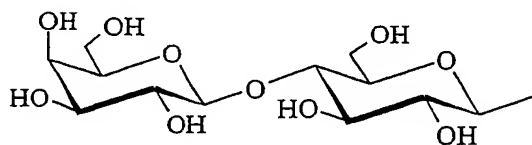
La présente invention concerne également un composé de formule (II-a) tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que le groupement R est choisi parmi les groupes suivants :

- le groupe α -D-mannopyranosyle, de formule suivante (III) :



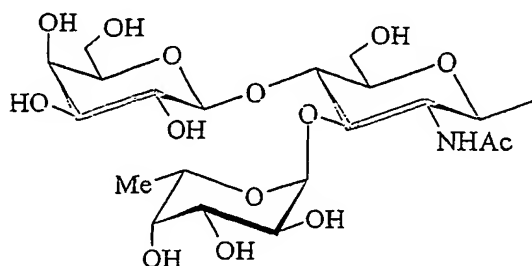
(III)

- le groupe β -lactosyle, de formule suivante (III-a) :

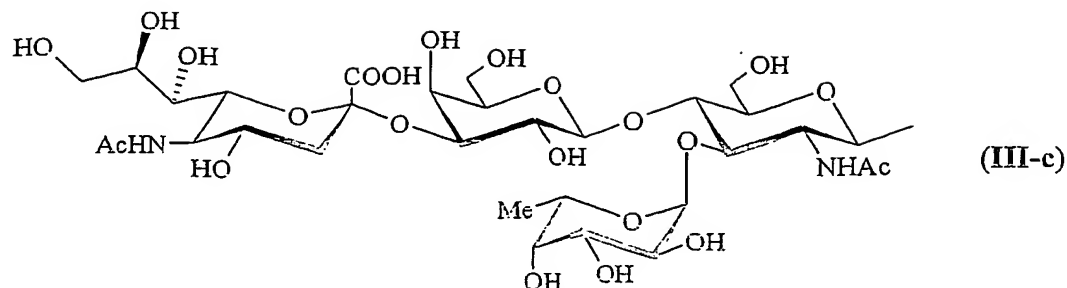


(III-a)

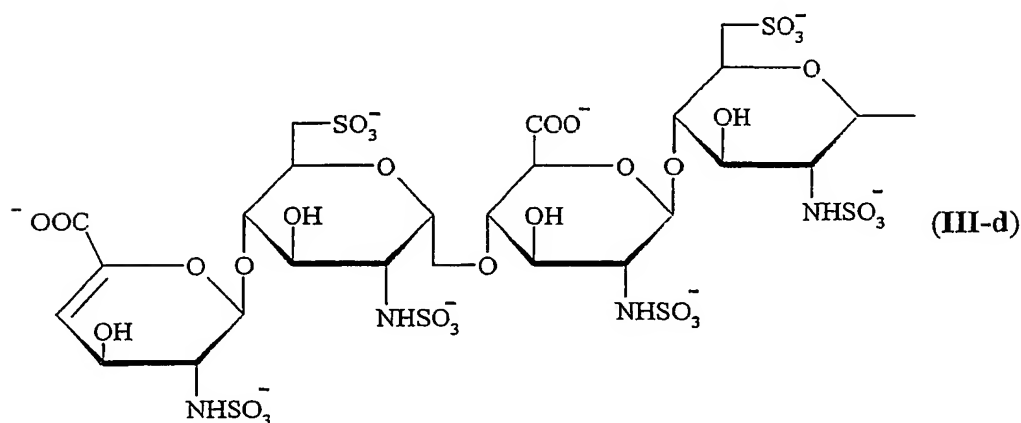
- le groupe dérivé du trisaccharide Lewis X ou du tétrasaccharide sialyl Lewis X, respectivement de formule suivante (III-b) et (III-c) :



(III-b)

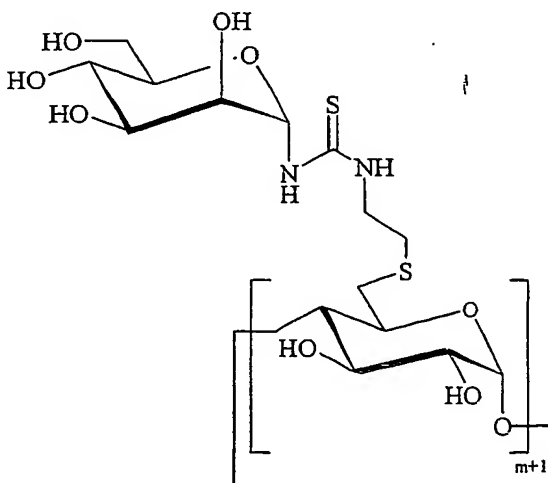


10 — un oligosaccharide dérivé de l'héparine, de formule suivante (III-d) :

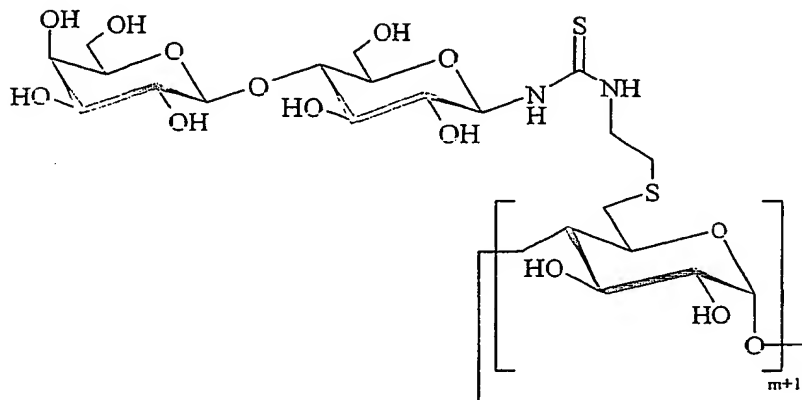


20 Ainsi, la présente invention concerne les composés répondant à l'une des formules suivantes :

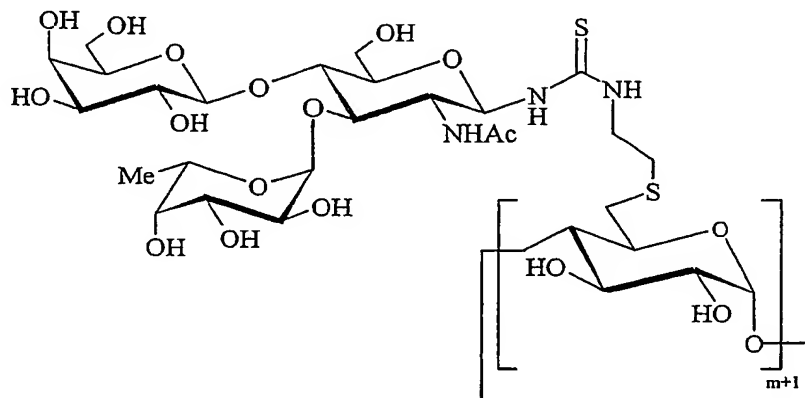
— composé de formule (II-a) lorsque R représente le groupe α -D-mannopyranosyle de formule (III) :



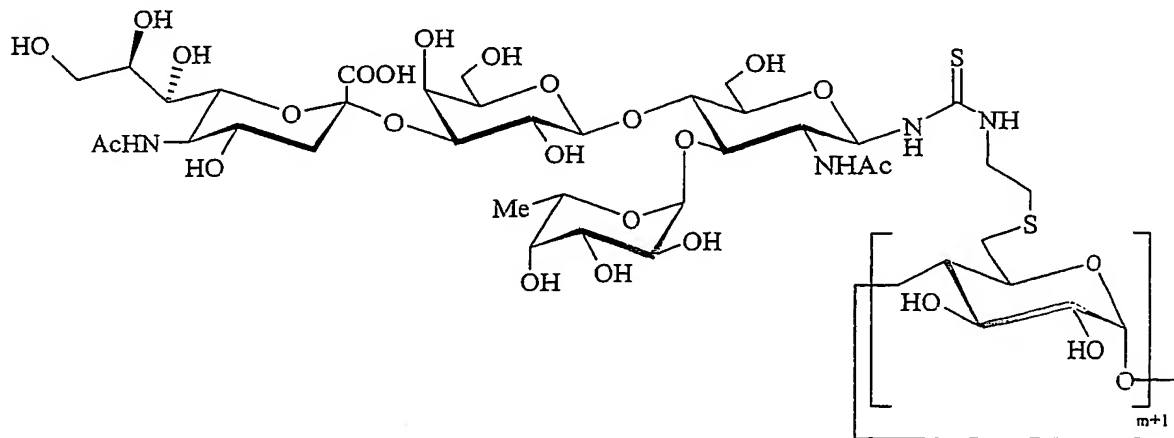
– composé de formule (II-a) lorsque R représente le groupe β -lactosyle de formule (III-a) :



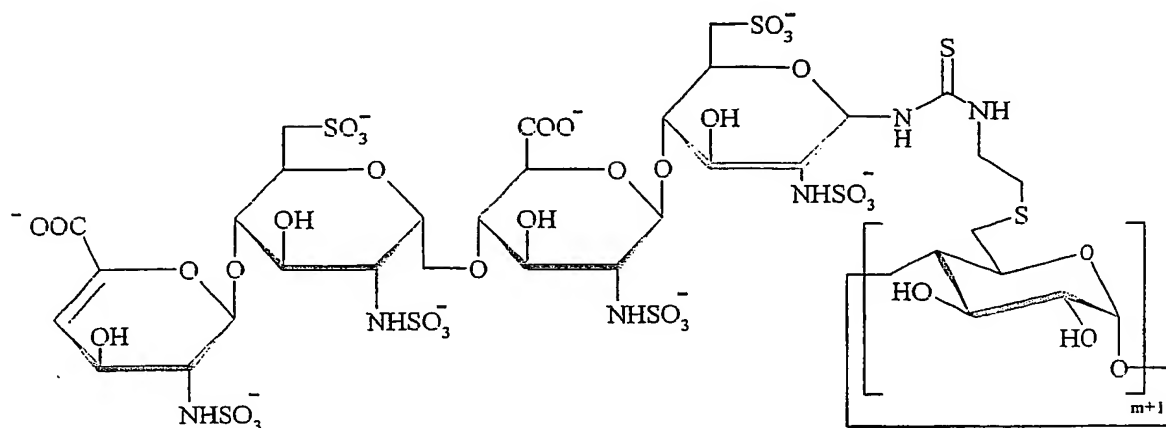
– composé de formule (II-a) lorsque R représente le groupe dérivé du trisaccharide Lewis X de formule (III-b) :



– composé de formule (II-a) lorsque R représente le groupe dérivé du tétrasaccharide sialyl Lewis X de formule (III-c) :



— composé de formule (II-a) lorsque R représente un oligosaccharide dérivé de l'héparine, de formule (III-d) :

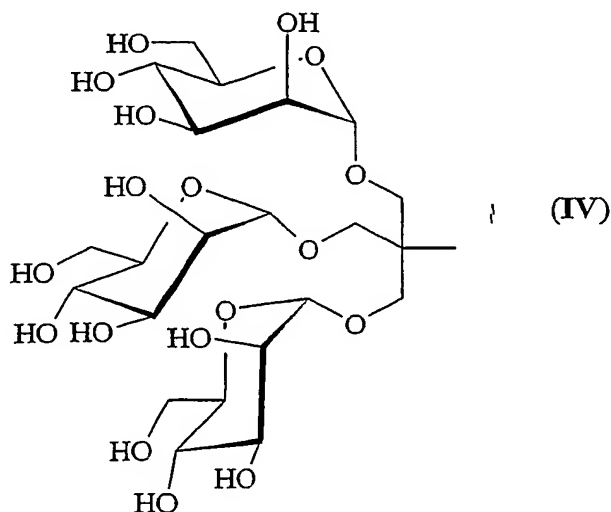


La présente invention concerne également un composé de formule (II-a) tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que :

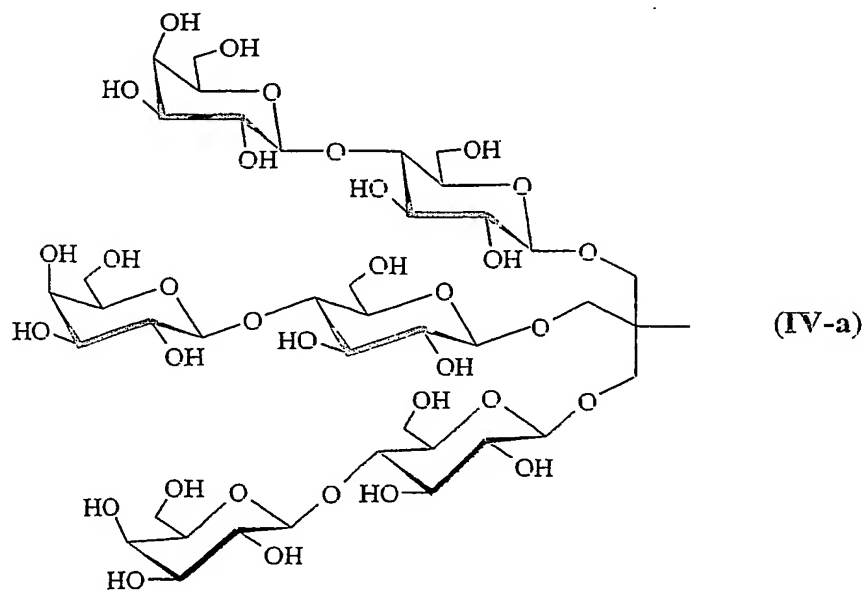
R comporte un élément de ramification dérivé du tris(2-hydroxyméthyl)méthylamine, ou

R représente l'un des groupes suivants :

— le groupe tris(α -D-mannopyranosyloxyméthyl)méthyle, de formule suivante (IV) :

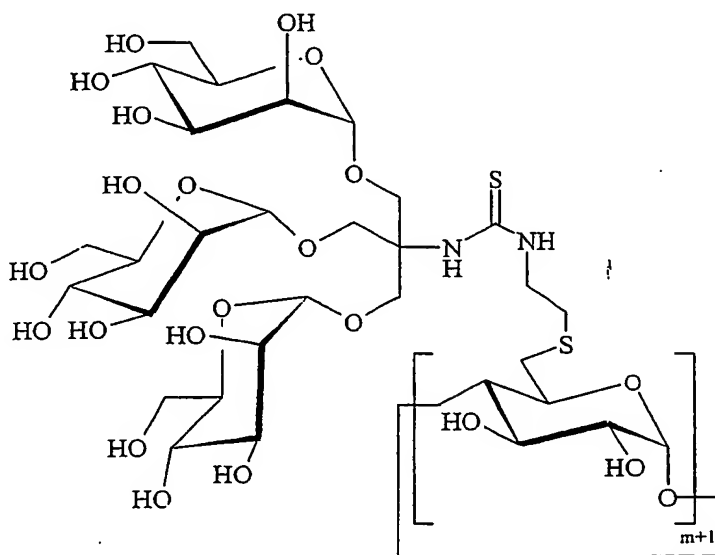


- le groupe tris(β -lactosyloxyméthyl)méthyle, de formule suivante (IV-a) :

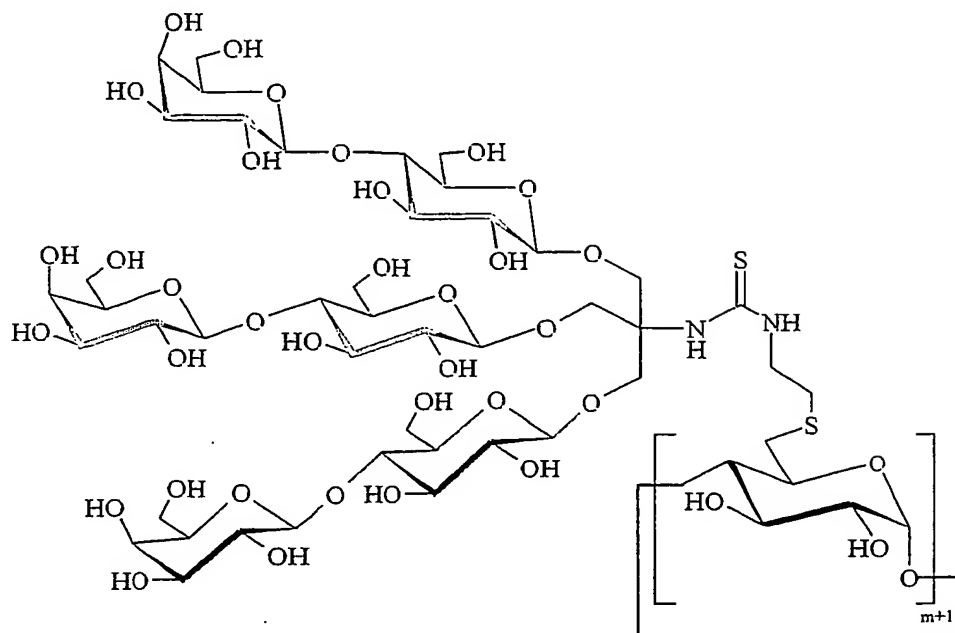


La présente invention concerne également les composés répondant à l'une des formules suivantes :

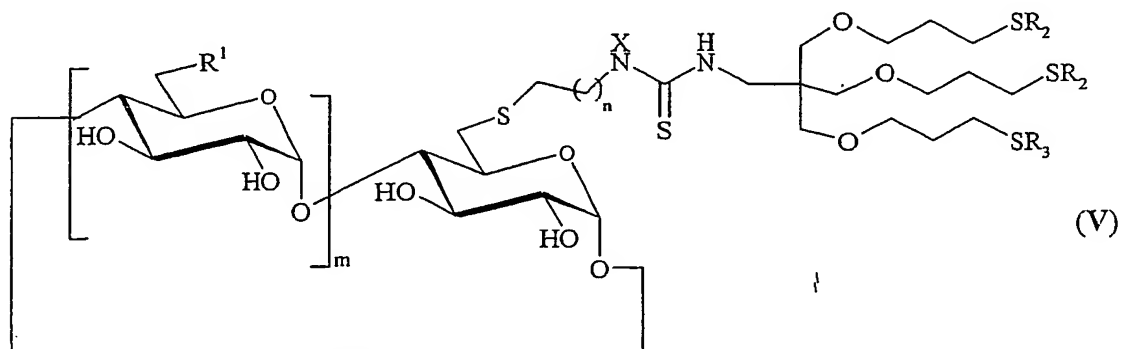
- composé de formule (II-a) lorsque R représente le groupe tris(α -D-mannopyranosyloxyméthyl)méthyle, de formule (IV) :



- composé de formule (II-a) lorsque R représente le groupe tris(β -lactosyloxyméthyl)méthyle, de formule (IV-a) :



La présente invention concerne également un composé de formule (I-a) tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que R comporte un élément de ramification dérivé du pentaérythritol, ledit composé répondant à la formule suivante :

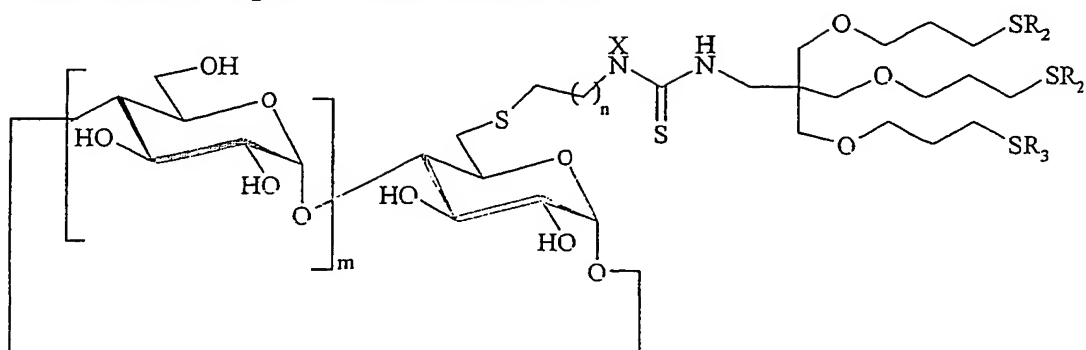


dans laquelle m, n, R^1 et X sont tels que définis ci-dessus, et

R^2 et R^3 représentent des dérivés glucidiques qui peuvent être différents ou identiques ou encore une sonde fluorescente ou radioactive.

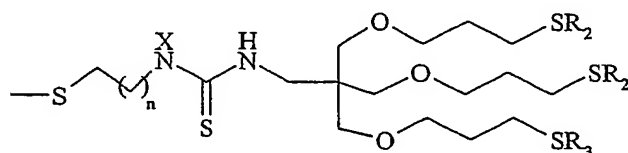
Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, de formule (V), caractérisé en ce que R¹ représente OH.

Un tel composé répond à la formule suivante :

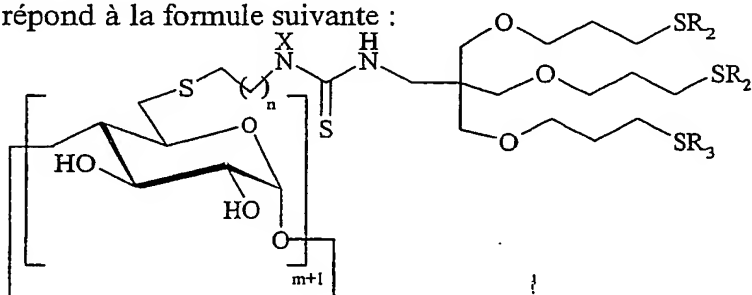


Les composés susmentionnés représentent des composés monosubstitués sur le cycle cyclodextrine.

Un composé avantageux selon la présente invention est un composé tel que défini ci-dessus, de formule (V), caractérisé en ce que R^1 représente le groupe de formule :



Un tel composé répond à la formule suivante :

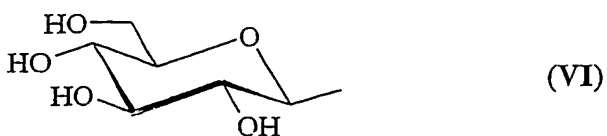


Les composés susmentionnés représentent des composés polysubstitués sur le cycle cyclodextrine.

La présente invention concerne également un composé tel que défini précédemment, de formule (V), caractérisé en ce que n est égal à 1, en ce que X représente un atome d'hydrogène et en ce que R^2 et R^3 représentent l'un des groupes suivants :

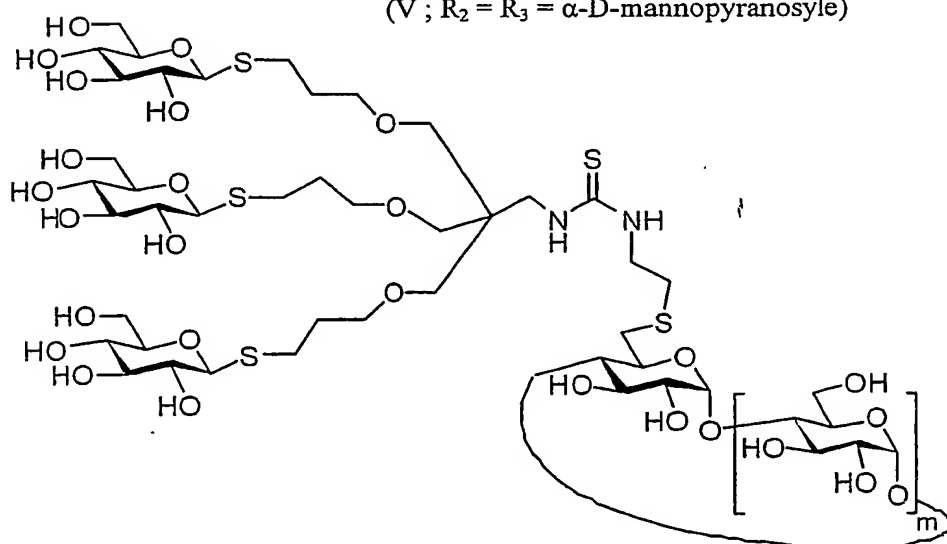
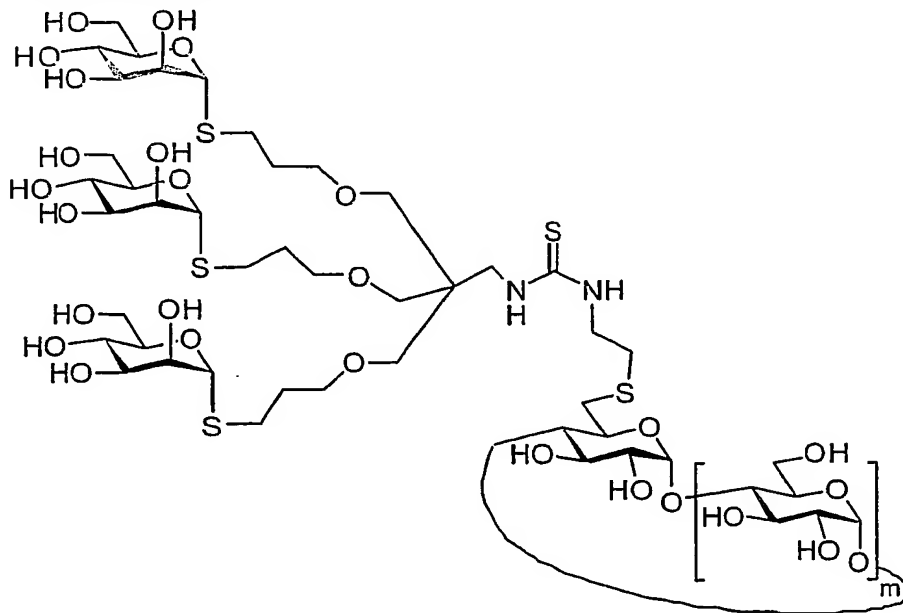
- le groupe α -D-mannopyranosyle, de formule (III), tel que défini ci-dessus, ou
- le groupe β -lactosyle, de formule (III-a), tel que défini ci-dessus, ou

– le groupe β -D-glucopyranosyle, de formule (VI) suivante :

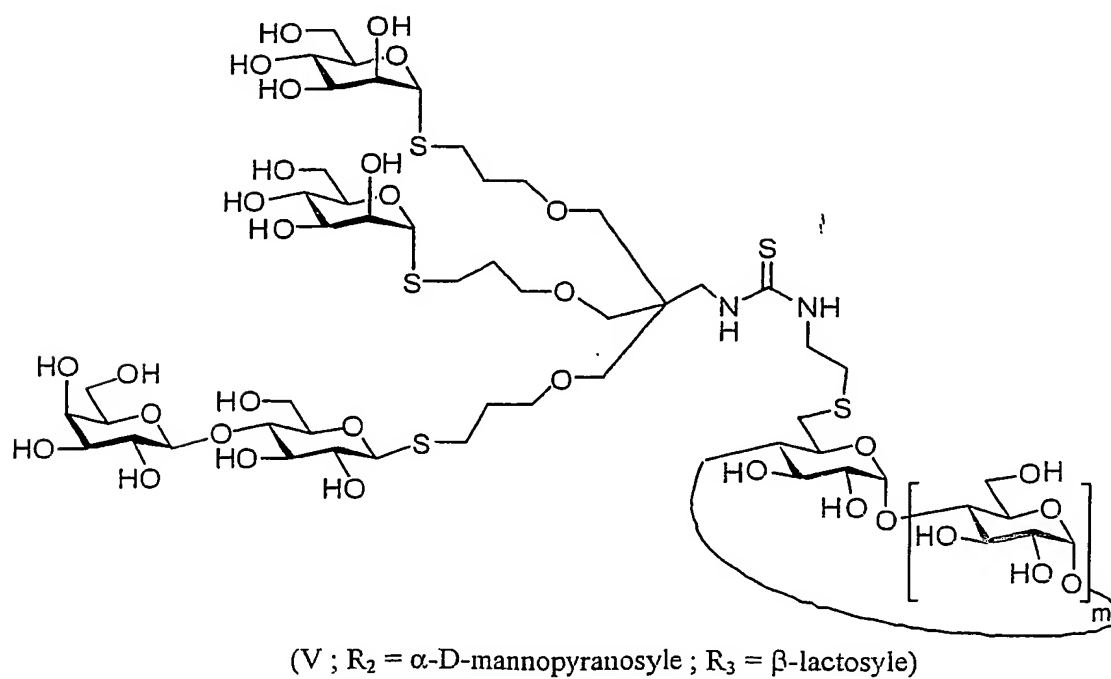
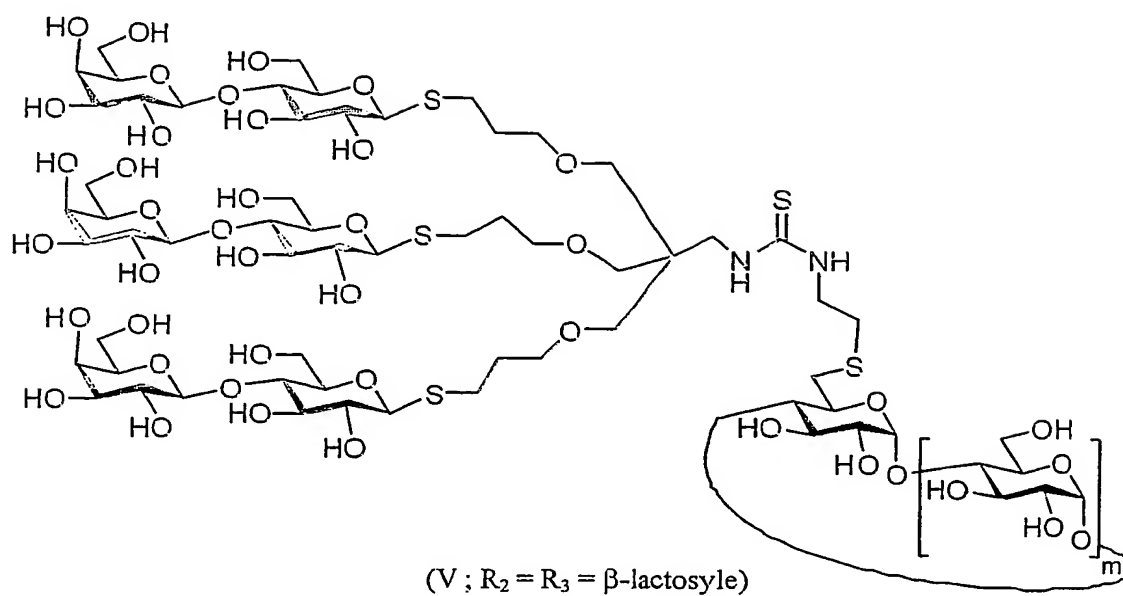
 R^2 et R^3 pouvant être identiques ou différents.

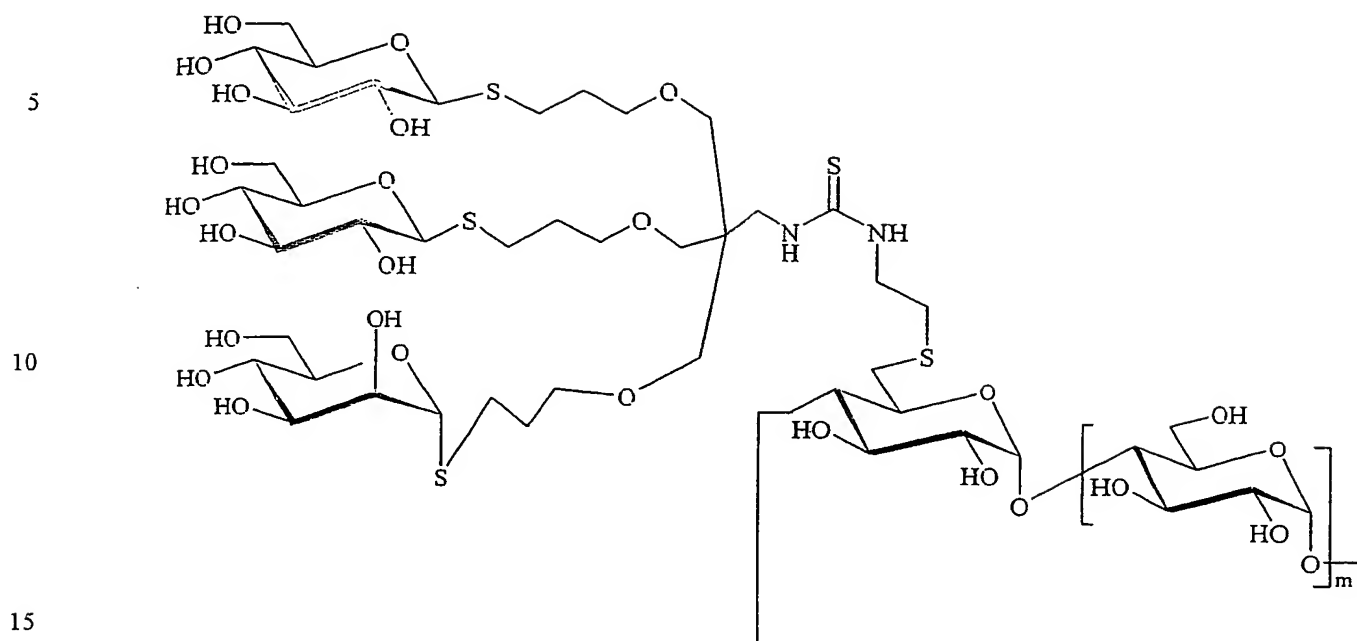
De tels composés répondent à l'une des formules suivantes :

a) Composés monosubstitués (cas où R_1 représente OH)



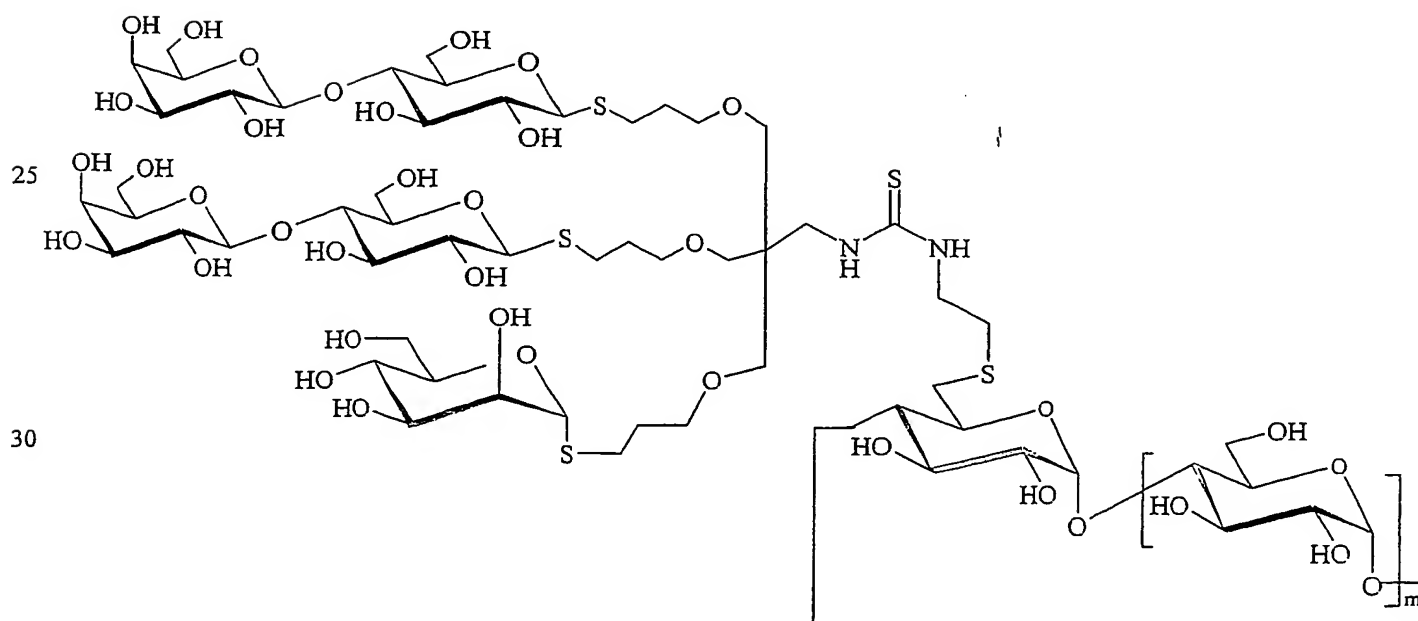
(V ; R₂ = R₃ = β-D-glucopyranosyle)



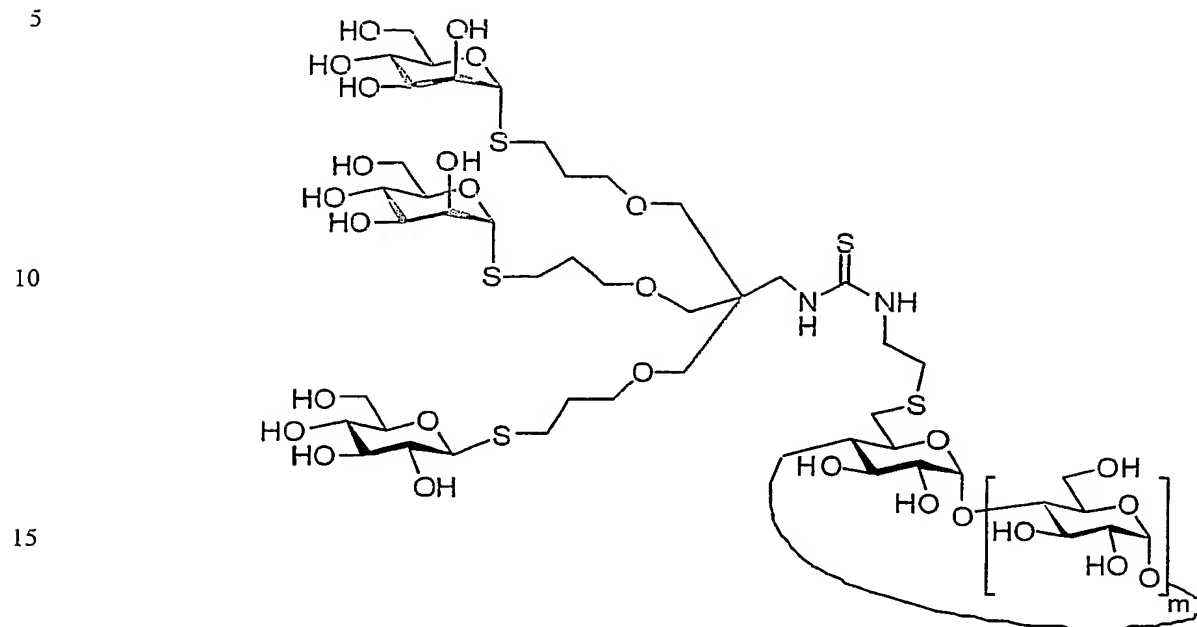


(V ; $\text{R}_2 = \beta\text{-D-glucopyranosyle}$; $\text{R}_3 = \alpha\text{-D-mannopyranosyle}$)

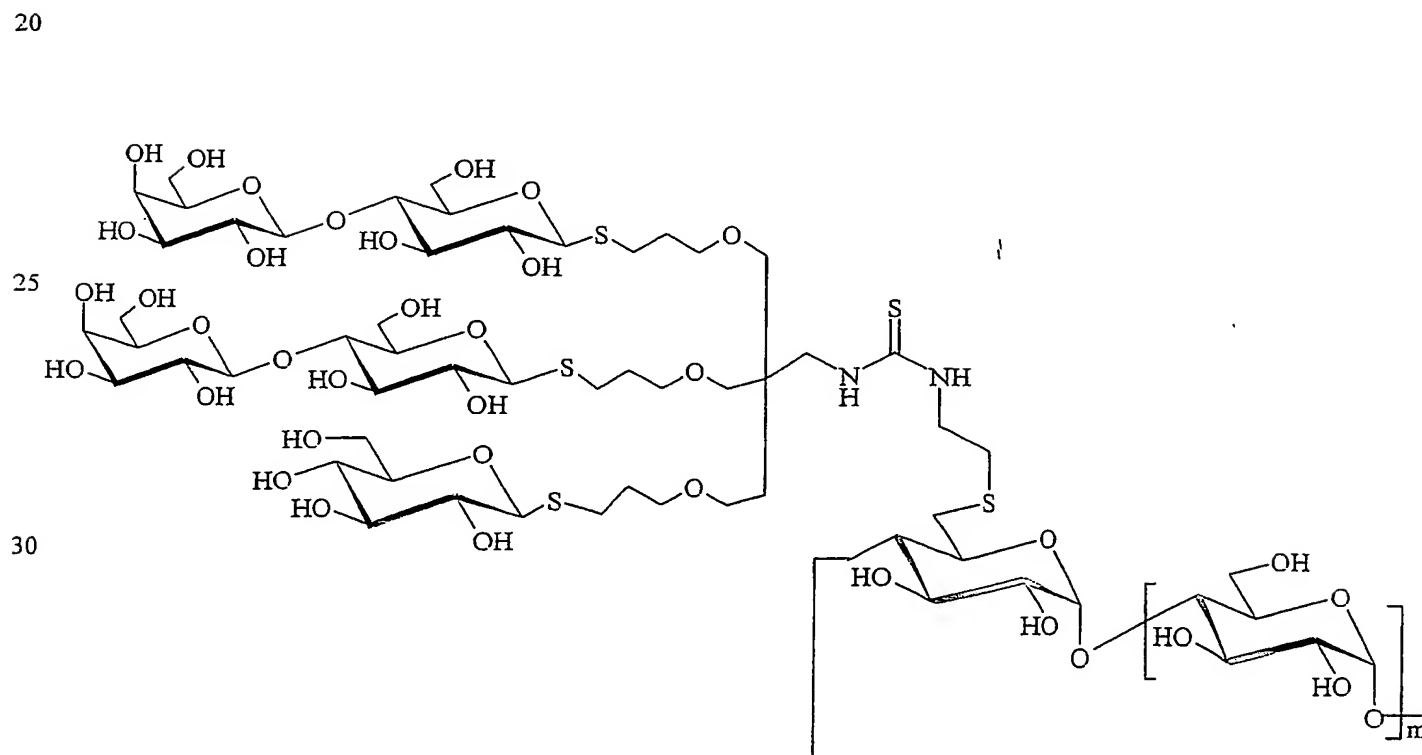
20



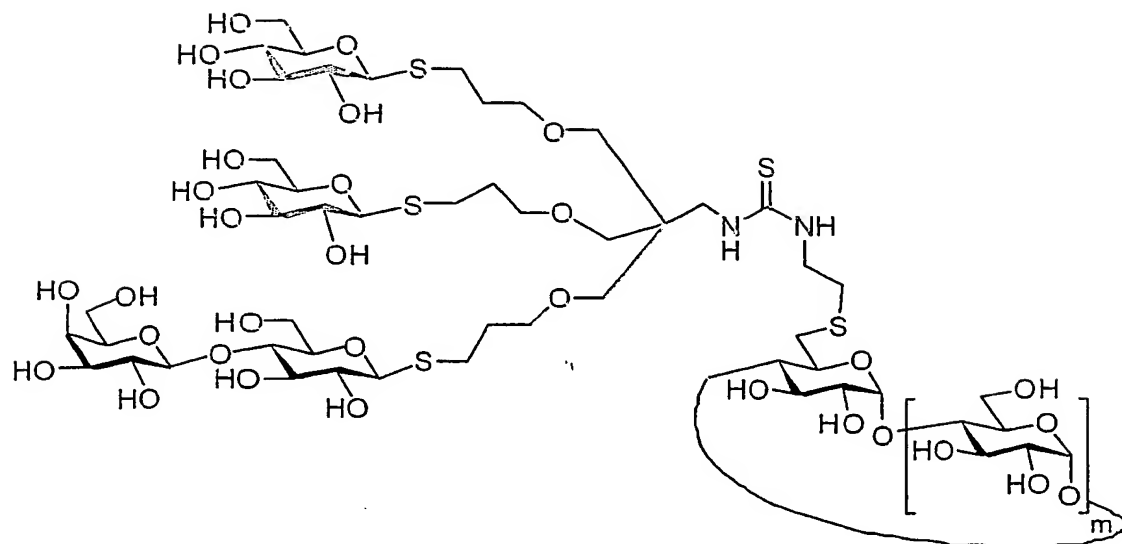
(V ; $\text{R}_2 = \beta\text{-lactosyle}$; $\text{R}_3 = \alpha\text{-D-mannopyranosyle}$)



(V ; $R_2 = \alpha$ -D-mannopyranosyle ; $R_3 = \beta$ -D-glucopyranosyle)

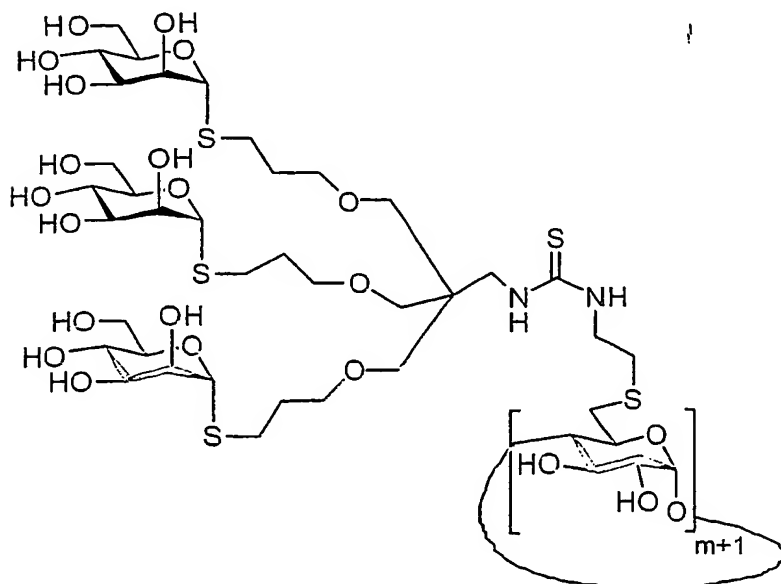


(V ; $R_2 = \beta$ -lactosyle ; $R_3 = \beta$ -D-glucopyranosyle)

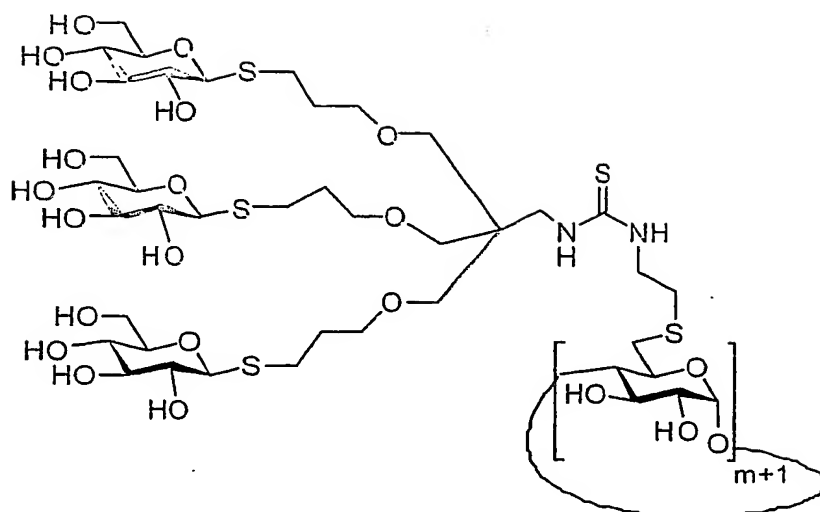


(V ; $R_2 = \beta$ -D-glucopyranosyle ; $R_3 = \beta$ -lactosyle)

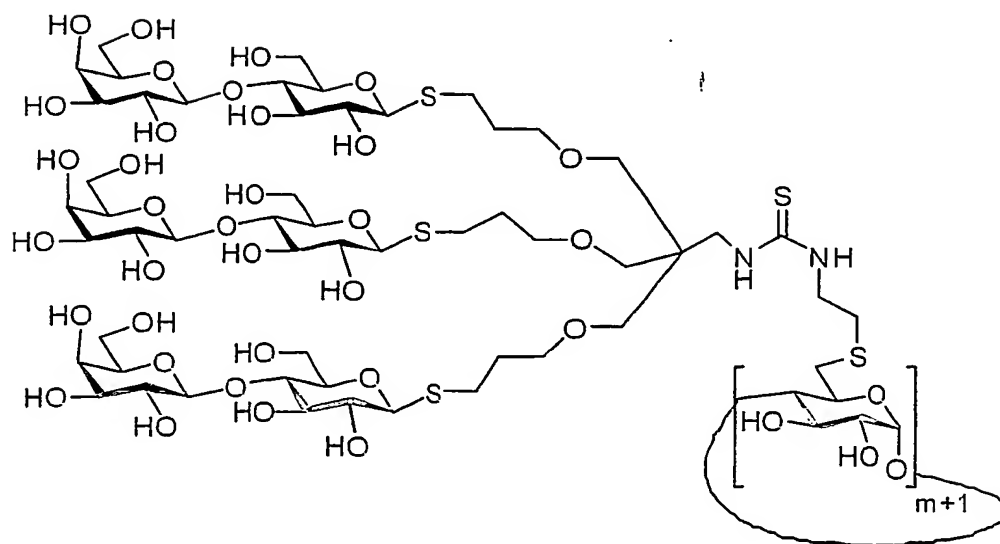
b) Composés polysubstitués



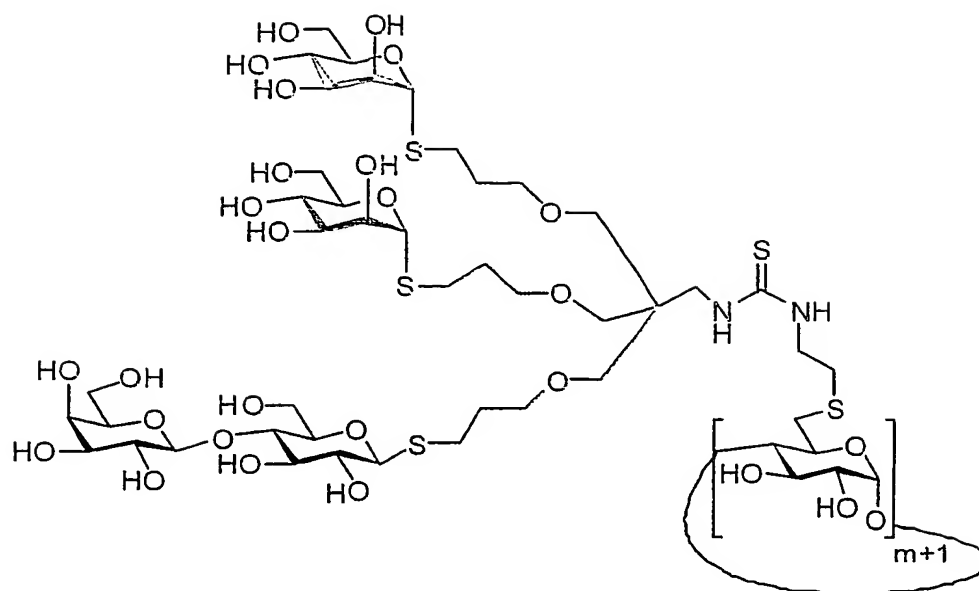
(V ; $R_2 = R_3 = \alpha$ -D-mannopyranosyle)



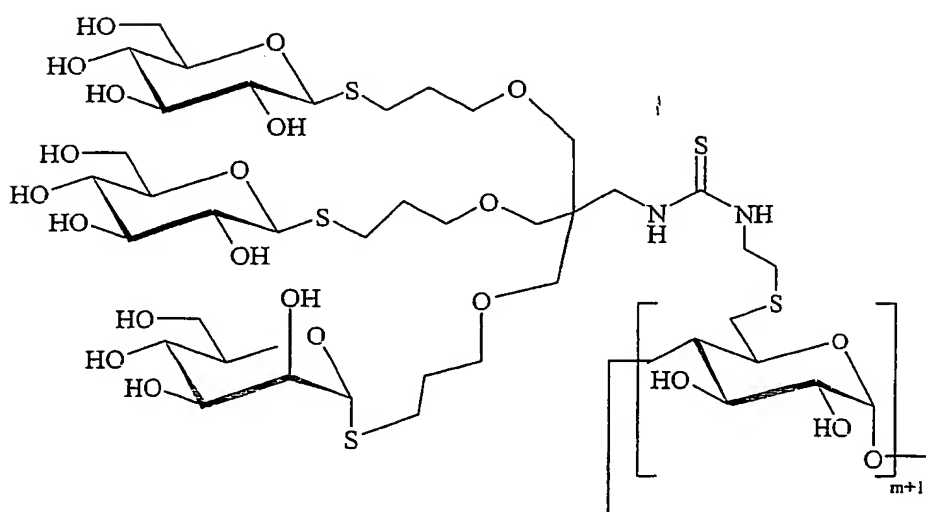
(V ; $R_2 = R_3 = \beta$ -D-glucopyranosyle)



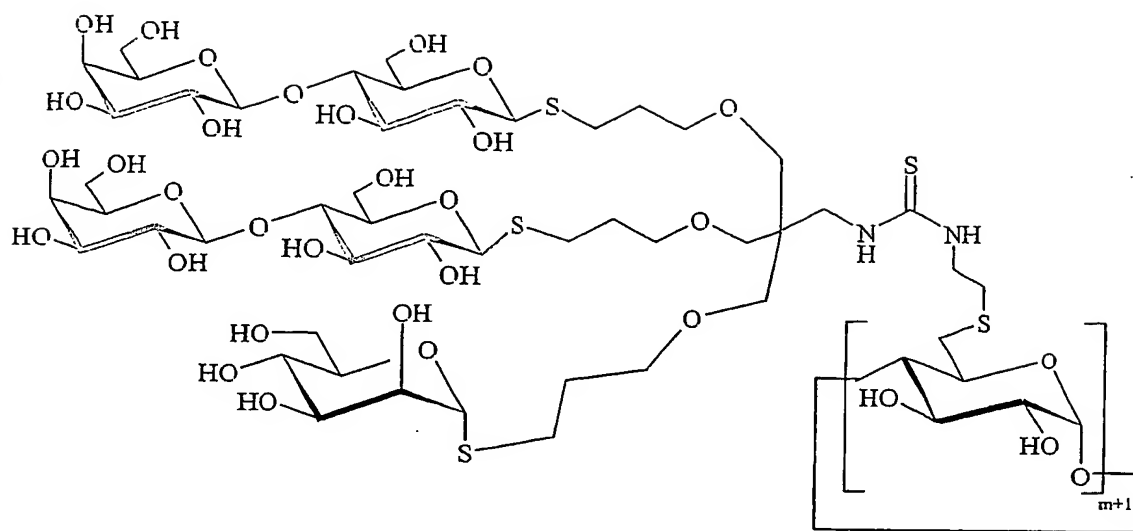
(V ; $R_2 = R_3 = \beta$ -lactosyle)



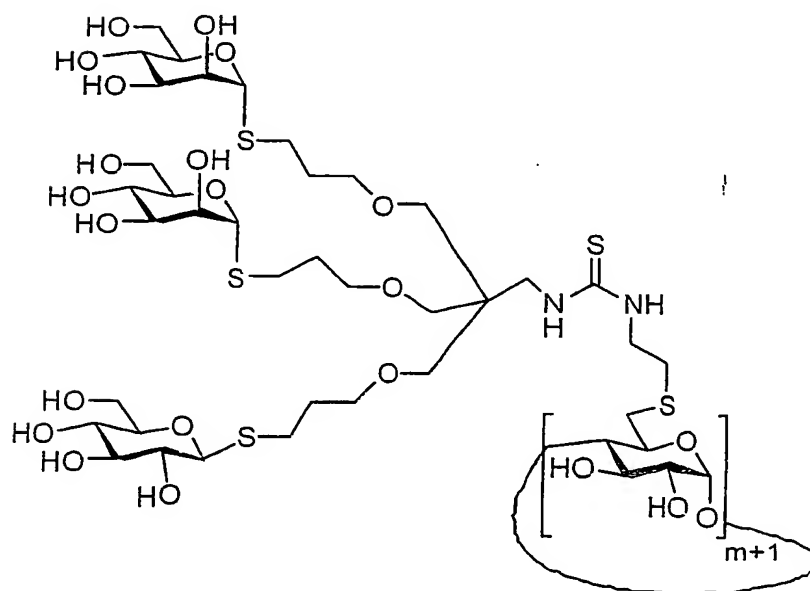
(V ; $R^2 = \alpha$ -D-mannopyranosyle ; $R^3 = \beta$ -lactosyle)



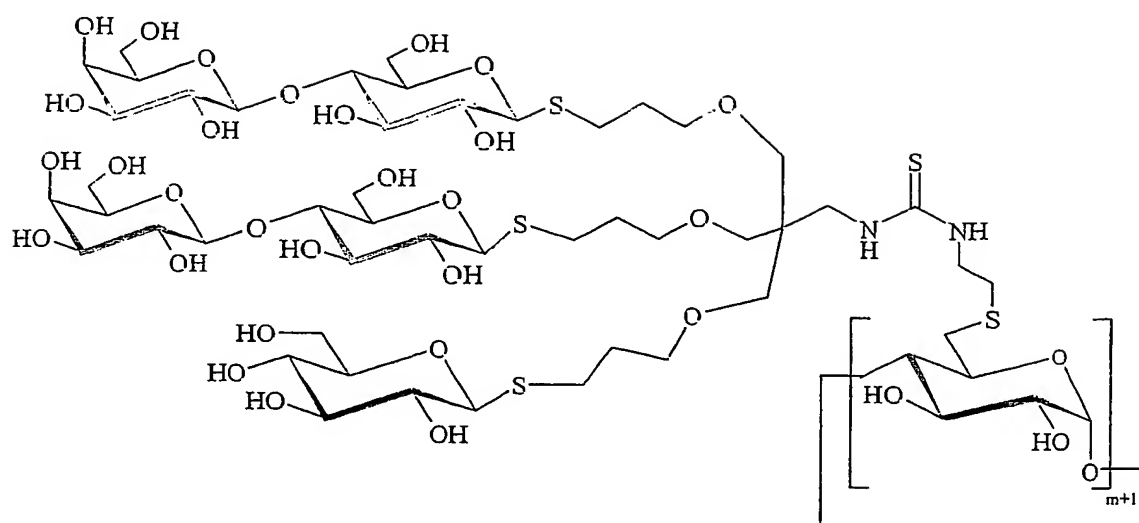
(V ; $R_2 = \beta$ -D-glucopyranosyle ; $R_3 = \alpha$ -D-mannopyranosyle)



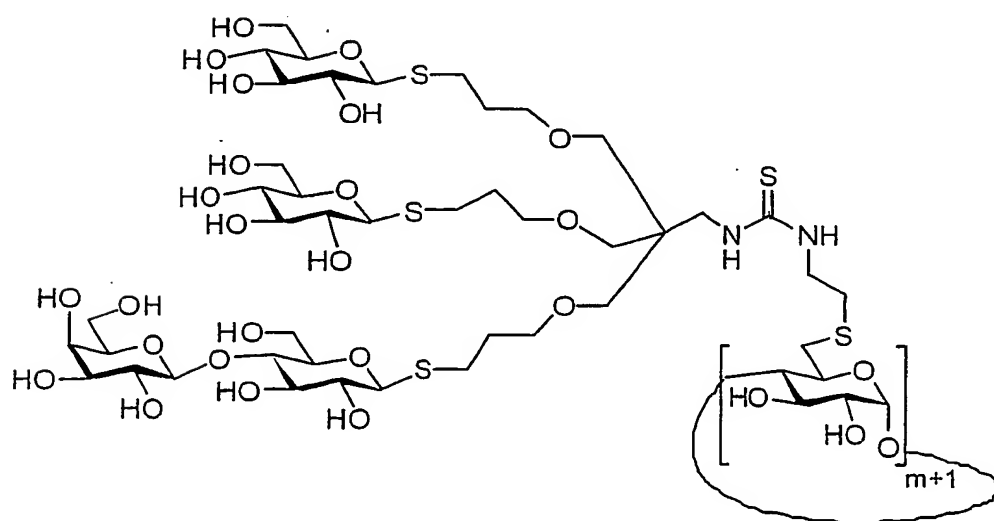
(V ; $R_2 = \beta$ -lactosyle ; $R_3 = \alpha$ -D-mannopyranosyle)



(V ; $R_2 = \alpha$ -D-mannopyranosyle ; $R_3 = \beta$ -D-glucopyranosyle)



(V ; R₂ = β-lactosyle ; R₃ = β-D-glucopyranosyle)



(V ; R₂ = β-D-glucopyranosyle ; R₃ = β-lactosyle)

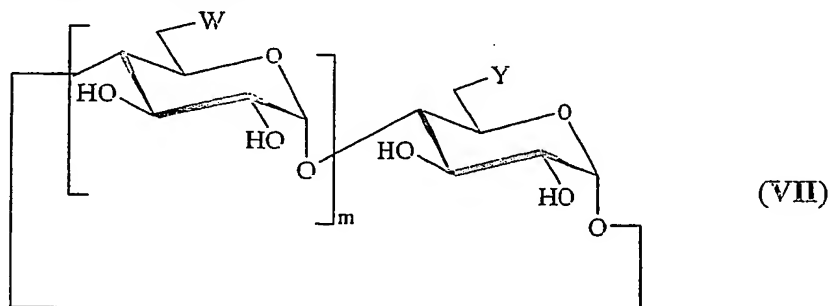
La présente invention concerne également un composé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que m est égal à 6.

L'utilisation des cystéaminyl-cyclodextrines de l'invention, répondant à la formule (I) où Z représente un groupement amine du type NHX (X = H ou substituant alkyle), comme précurseurs pour la préparation de dérivés persubstitués en position alcool primaire par des substituants glucidiques présente des avantages en comparaison à d'autres méthodes préalablement décrites. Notamment, la formation d'une liaison thiourée présente des avantages du point de vue de la simplicité opératoire, des rendements et de la purification du produit final qui ne nécessite le plus souvent pas de séparation chromatographique. De plus, la présence du bras espaceur de type cystéaminyne permet de diminuer l'encombrement stérique et permet l'incorporation d'un élément de multiplication pour accéder à des dérivés hyperramifiés, susceptibles d'être mieux reconnus par des récepteurs cellulaires spécifiques du fait de la multiplication du motif de reconnaissance, ce qui n'est pas le cas des procédés de l'art antérieur, notamment de la demande internationale WO 97/33919.

En effet, dans l'art antérieur, du fait probablement d'un encombrement stérique, les per(6-amino-6-désoxy)cyclodextrines utilisées comme matière de départ dans la préparation des thiouréido-cyclodextrines persubstitués en position alcool primaire et décrites dans le document WO 97/33919, ont une réactivité nucléophile relativement faible, si bien que la réaction avec des isothiocyanates pour créer la liaison thiourée ne se fait correctement qu'avec des isothiocyanates activés, tels que les glycosyl-isothiocyanates, ce qui complique la réaction et empêche l'incorporation d'éléments de multiplication. Par ailleurs, le document *ChemBioChem* 2001 déjà cité montre que les glycosylthioureido-cyclodextrines résultantes sont mal reconnues par des lectines spécifiques complémentaires.

La présente invention concerne également un procédé de préparation d'un composé tel que défini ci-dessus, de formule (I), caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

– la réaction d'un composé sélectivement ou totalement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m étant tel que défini ci-dessus,

W représentant un groupe OH ou un groupe Y, les groupes W étant tous identiques,

et Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

avec un ω -aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,

ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :

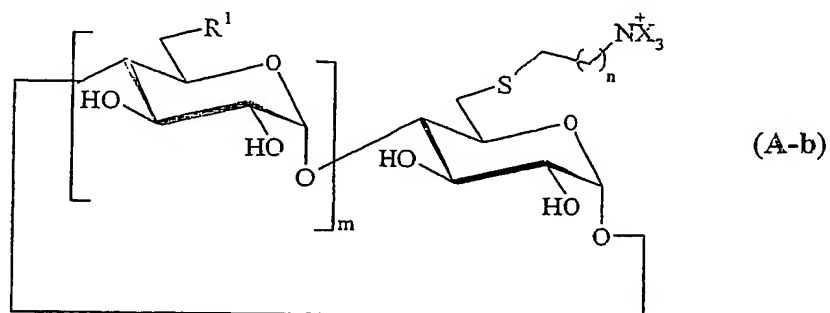
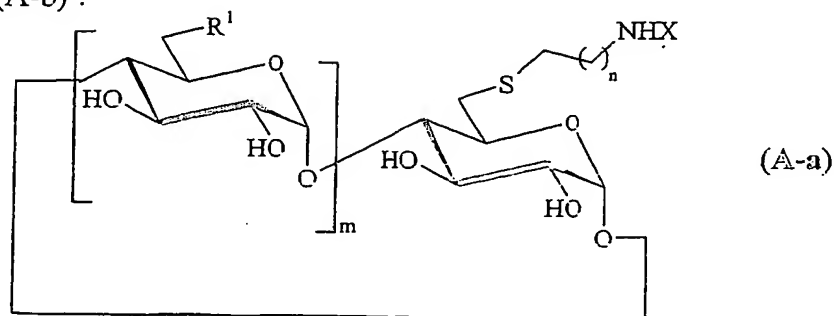


ledit sel étant associé à un contre-ion halogénure, de préférence l'ion chlorure,

n et X étant tels que définis ci-dessus, et X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

afin d'obtenir un composé tel que défini ci-dessus et répondant aux formules suivantes (A-a) ou (A-b) :



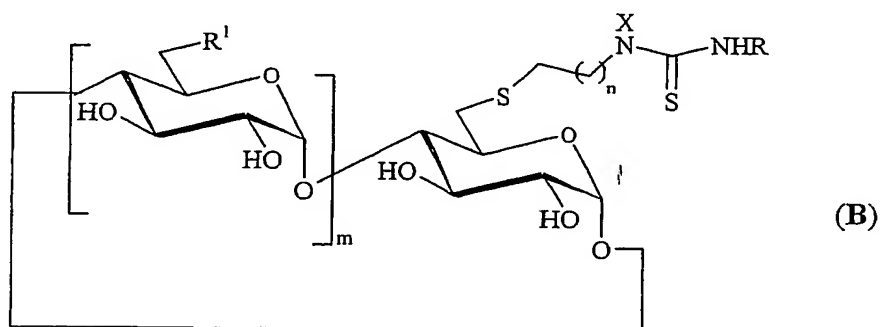
et éventuellement

– la réaction du composé de formule (A-a) tel qu'obtenu à l'étape précédente avec un isothiocyanate de formule (IX) suivante :



dans laquelle R est tel que défini ci-dessus,

afin d'obtenir un composé tel que défini ci-dessus, et répondant à la formule suivante :

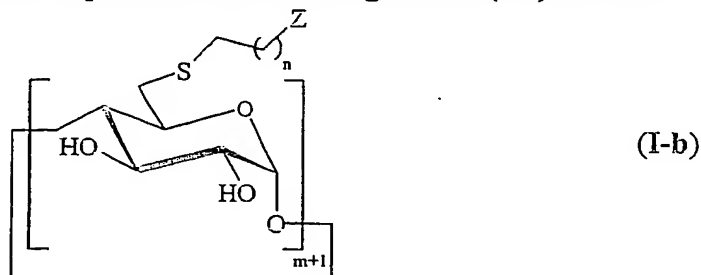


Ce procédé permet d'obtenir des composés mono- et polysubstitués sur le cycle cyclodextrine.

La première étape du procédé susmentionné est effectuée dans la diméthylformamide en présence de triéthylamine (proportion DMF/triéthylamine 4:1), et l'ensemble est agité pendant 48 heures à température ambiante. Le rendement de cette étape est compris entre environ 80 et 95%.

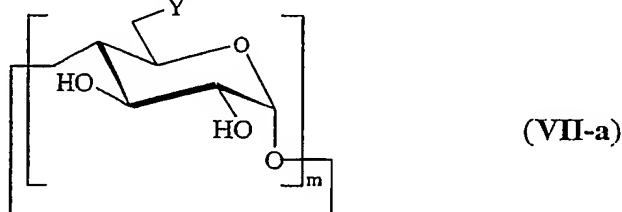
La deuxième étape de ce procédé est un couplage effectué dans un mélange eau-acétone (1:1 à 1:2) à pH 8-9 (bicarbonate de sodium) à température ambiante pendant 1 à 6 heures. Le rendement de cette étape est compris entre environ 55 et 95%.

La présente invention concerne également un procédé de préparation d'un composé tel que défini ci-dessus, répondant à la formule générale (I-b) suivante :



ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

– la réaction d'un composé per(6-désoxy-6-halo) cyclodextrine, de formule (VII-a) suivante :



m étant tel que défini ci-dessus, et Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

avec un ω -aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,

ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :

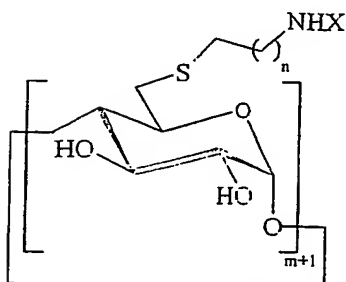


ledit sel étant associé à un contre-ion halogénure, de préférence l'ion chlorure,

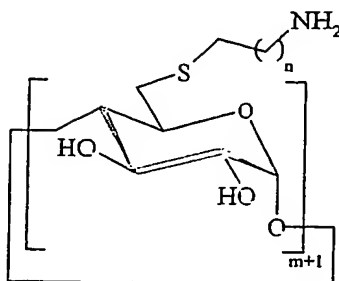
n et X étant tels que définis ci-dessus, et X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $H_2N-CH_2-CH_2-SH$,

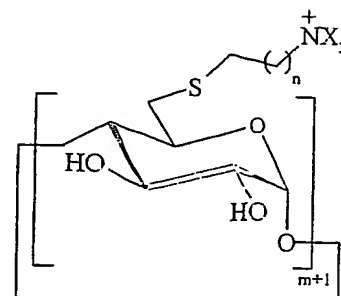
afin d'obtenir un composé de formule (I-c), (I-d) ou (I-e), tel que défini ci-dessus,



(I-c)



(I-d)



(I-e)

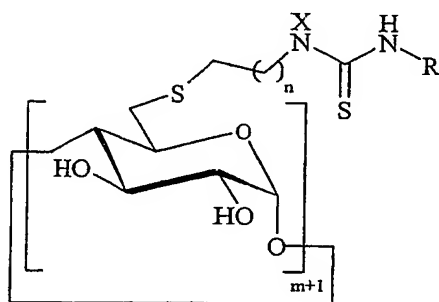
et éventuellement

– la réaction du composé de formule (I-c) tel qu'obtenu à l'étape précédente avec un isothiocyanate de formule (IX) suivante :

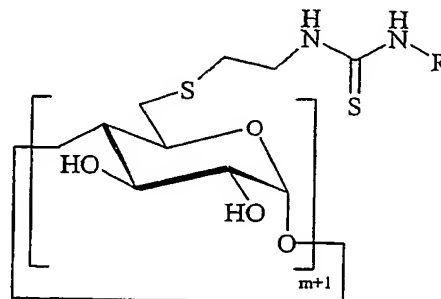


dans laquelle R est tel que défini ci-dessus,

afin d'obtenir un composé de formule (II) ou (II-a), tel que défini ci-dessus.



(II)



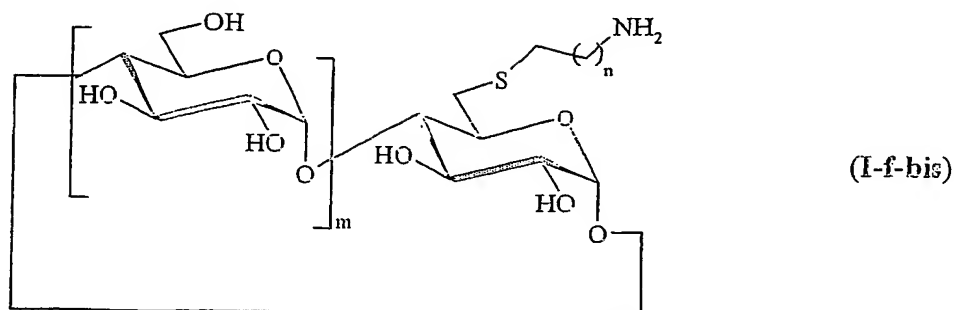
(II-a)

Ce procédé permet d'obtenir des composés polysubstitués sur le cycle cyclodextrine.

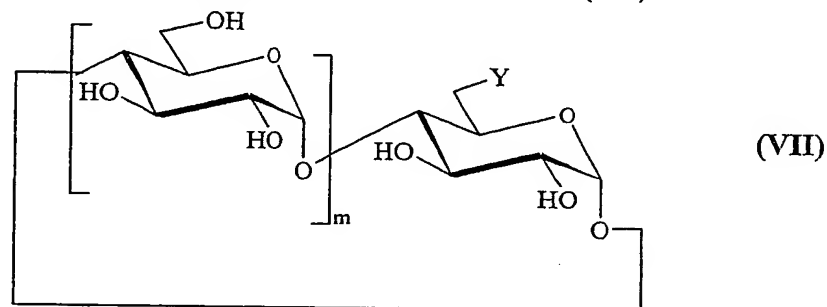
La première étape du procédé susmentionné est effectuée dans la diméthylformamide en présence de triéthylamine (proportion DMF/triéthylamine 4:1), et l'ensemble est agité pendant 48 heures à température ambiante. Le rendement de cette étape est compris entre environ 80 et 95%.

La deuxième étape de ce procédé est un couplage effectué dans un mélange eau-acétone (1:1 à 1:2) à pH 8-9 (bicarbonate de sodium) à température ambiante pendant 1 à 6 heures. Le rendement de cette étape est compris entre environ 55 et 90%.

La présente invention concerne également un procédé de préparation d'un composé de formule (I-f-bis)



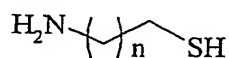
10 dans laquelle m et n sont tels que définis ci-dessus, n étant de préférence égal à 1, ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend la réaction d'un composé sélectivement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m étant tel que défini ci-dessus, et

20 Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

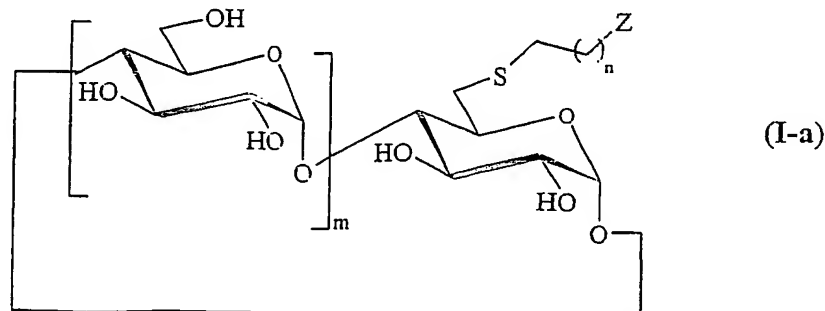
avec un ω-aminoalcanethiol de formule suivante :



n étant tel que défini ci-dessus,

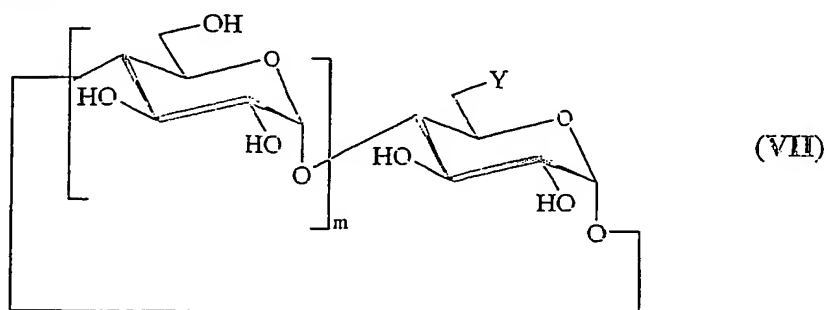
25 ou de préférence avec la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$.

La présente invention concerne également un procédé de préparation de composés tels que définis ci-dessus, répondant à la formule suivante :



ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

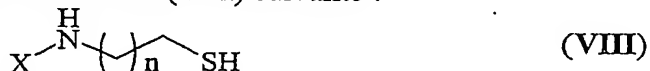
– la réaction d'un composé sélectivement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m étant tel que défini ci-dessus, et

Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

avec un ω -aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :

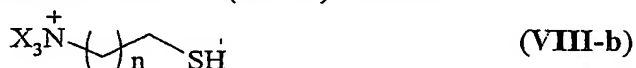


ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,

ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :

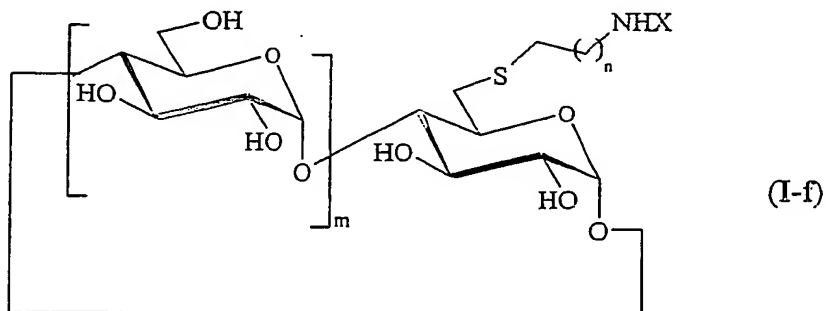


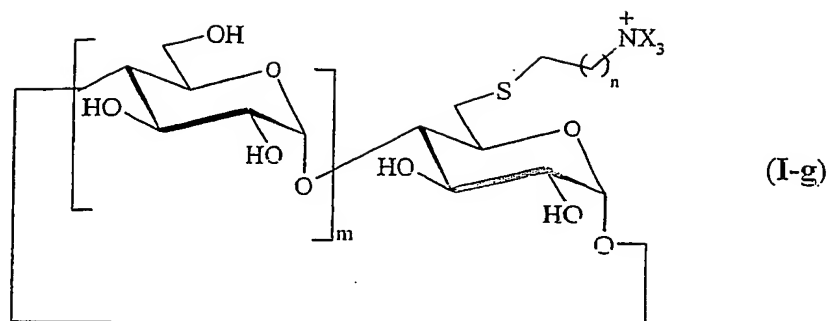
ledit sel étant associé à halogénure comme contre-ion, et étant de préférence l'ion chlorure,

n et X étant tels que définis ci-dessus, et X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

afin d'obtenir un composé de formule (I-f) ou (I-g) tel que défini ci-dessus, de formule suivante :





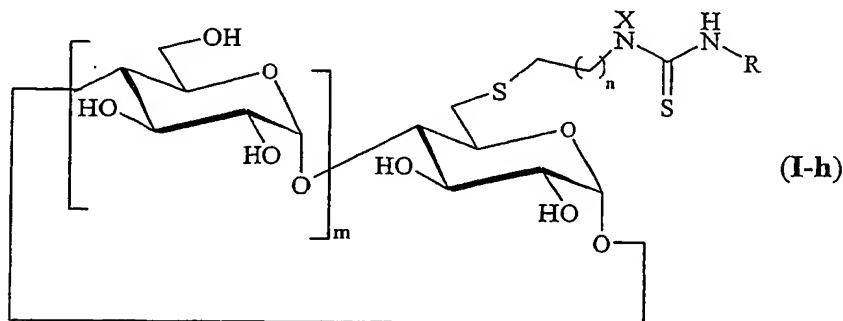
dans lesquelles m , n et X sont tels que définis ci-dessus,
et éventuellement

– la réaction du composé de formule (I-f) tel qu'obtenu à l'étape précédente avec
un isothiocyanate de formule (IX) suivante :



dans laquelle R est tel que défini ci-dessus,

afin d'obtenir un composé tel que défini ci-dessus, de formule (I-h) :



Ce procédé permet d'obtenir des composés monosubstitués sur le cycle
cyclodextrine.

La première étape du procédé susmentionné est effectuée dans la
diméthylformamide en présence de triéthylamine (proportion DMF/triéthylamine 4:1),
et l'ensemble est agité pendant 48 heures à température ambiante. Le rendement de cette
étape est compris entre environ 85 et 95%.

La deuxième étape de ce procédé est un couplage effectué dans un mélange eau-
acétone (1:1) à pH 8-9 (bicarbonate de sodium) à température ambiante pendant 1 à 3
heures. Le rendement de cette étape est compris entre environ 80 et 95%.

Les dérivés de type cystéaminy-cyclodextrine de l'invention répondant à la
formule (I), dans laquelle tous les R^1 sont identiques et représentent $S-CH_2-(CH_2)_n-Z$,
peuvent être préparés par un procédé qui consiste à faire réagir un dérivé de

cyclodextrine persubstitué en position alcool primaire par des groupements halogénés, en particulier les per(6-bromo ou 6-iodo-6-désoxy)cyclodextrines, avec le chlorhydrate de cystéamine commercial ou, en général, avec un halohydrate d'un ω -aminoalcanethiol de 2 à 6 atomes de carbone, éventuellement *N*-alkylé, dans la *N,N*-diméthylformamide en présence d'une base telle qu'une amine comme la triéthylamine ou la *N,N*-diméthylaminopyridine, ou un hydrure métallique tel que les hydrures de sodium ou de lithium. Les dérivés de cyclodextrines persubstitués en position alcool primaire par des groupements halogénés, utilisés comme produits de départ dans ce procédé, peuvent être préparés à partir de la cyclodextrine commerciale en une seule étape et un bon rendement par réaction avec divers réactifs d'halogénéation sélective. On peut utiliser pour cela les procédés décrits par J. Defaye et col. dans les documents *Supramol. Chem.*, 2000, 12, pp. 221-224, *Polish J. Chem.* 1999, 73, pp. 967-971, *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, pp. 7365-7368, *Carbohydr. Res.* 1992, 228, pp. 307-314, et *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1991, 30, pp. 78-80.

Les dérivés de type cystéaminyl-cyclodextrine de l'invention répondant à la formule (I) dans laquelle tous les R^1 sont identiques et représentent OH peuvent être préparés par un procédé qui consiste à faire réagir un dérivé de cyclodextrine monosubstitué en position alcool primaire par un groupement halogéné, en particulier les mono(6^I-bromo ou 6^I-iodo-6^I-désoxy)cyclodextrines, avec le chlorhydrate de cystéamine commercial ou, en général, avec un halohydrate d'un ω -aminoalcanethiol de 2 à 6 atomes de carbone, éventuellement *N*-alkylé, suivant la méthodologie décrite ci-dessus pour la préparation des dérivés persubstitués en position alcool primaire. Les dérivés de cyclodextrines monosubstitués en position alcool primaire par des groupements halogénés, utilisés comme produits de départ dans ce procédé, peuvent être préparés à partir du dérivé 6^I-*O*-*p*-toluènesulfonyl de la cyclodextrine en une étape et un bon rendement par déplacement nucléophile du groupe tosylate par un anion halogénure dans la *N,N*-diméthylformamide. Pour la préparation des dérivés de cyclodextrines comportant un groupement *p*-toluènesulfonate sur une seule des positions alcool primaire, on peut utiliser le procédé décrit par J. Defaye et col. dans le document WO/9961483 ou les procédés décrits dans l'article de revue par L. Jicsinszky et col. dans *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Vol. 3 (Editeurs J. Szejtli et T. Osa), Pergamon, Oxford, 1996, pp. 57-198.

L'invention concerne aussi des dérivés de type cystéaminyl-cyclodextrine répondant à la formule (I) dans laquelle les R^1 sont différents et représentent OH ou S-

CH₂-(CH₂)_n-Z, avec différents schémas de substitution. On peut accéder à ce type de dérivés en partant des dérivés de cyclodextrine sélectivement substitués par des groupements de type sulfonate en position alcool primaire suivant la séquence des réactions décrite ci-dessus pour la préparation des dérivés de type cystéaminyl-cyclodextrine monosubstitués en position alcool primaire. Pour la préparation des dérivés de cyclodextrine sélectivement polysubstitués en positions alcool primaire par des groupements de type sulfonate, on peut utiliser les procédés décrits dans l'article de revue par L. Jicsinszky et col. dans *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Vol. 3 (Editeurs J. Szejtli et T. Osa), Pergamon, Oxford, 1996, pp. 57-198.

Le procédé de préparation des thiouréidocystéaminyl-cyclodextrines de formule (II) de l'invention consiste à faire réagir une cystéaminyl-cyclodextrine de formule (I) où Z représente un groupement amine du type NHX (X = H ou substituant alkyle) avec un isothiocyanate de formule R-NCS dans laquelle R a la signification donnée ci-dessus. Cette réaction peut être faite dans un solvant organique tel que la pyridine ou encore dans un mélange d'eau avec un solvant organique miscible tel que l'acétone.

Lorsque R est un groupe dérivé d'un monosaccharide ou d'un oligosaccharide, l'isothiocyanate de formule R-NCS peut être préparé par réaction du thiophosgène sur un aminodésoxyglycose ou une glycosylamine. On peut suivre pour cette réaction les procédés décrits par J. M. Garcia Fernandez et C. Ortiz Mellet dans *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 1999, 55, pp. 35-135.

Lorsque R comporte un élément de multiplication ramifié dérivé du tris(2-hydroxyméthyl)méthylamine (TRIS), on peut préparer l'isothiocyanate correspondant par réaction du thiophosgène sur le dérivé aminé portant des substituants glucidiques sur les positions alcool primaire, comme décrit dans le document *Chem. Commun.*, 2000, pp. 1489-1490. Le glycodendron trivalent aminé précurseur peut être obtenu par réaction de glycosidation d'un dérivé du TRIS avec la fonction amine convenablement protégée sous forme de dérivé carbobenzoxy, comme décrit par P. R. Ashton et al. dans *J. Org. Chem.* 1998, 63, pp. 3429-3437.

Lorsque R comporte un élément de multiplication ramifié dérivé du pentaérythritol, les glycodendrons convenablement fonctionnalisés avec un groupement isothiocyanate peuvent être préparés à partir du pentaérythritol commercial par une séquence de réactions qui implique :

(i) une triallylation sélective par traitement avec le bromure d'allyle, ce qui laisse un seul groupe hydroxyle libre ;

(ii) l'addition radicalaire d'un 1-thiosucre à la double liaison des groupements allyle. Cette réaction peut se faire, soit par activation par la lumière ultraviolette, soit en présence d'un initiateur de radicaux libres tel que l'azobis(isobutyronitrile) ou l'acide *p*-nitroperbenzoïque. A titre d'exemple, on peut adapter les conditions réactionnelles décrites par D. A. Fulton et J. F. Stoddart dans *Org. Lett.* 2000, 2, pp. 1113-1116 ou par X.-B. Meng et al. dans *Carbohydr. Res.* 2002, 337, pp. 977-981. Nous avons découvert notamment que cette réaction permet l'addition séquentielle des différentes ramifications glucidiques. On peut ainsi accéder à des glycodendrons homogènes aussi bien qu'hétérogènes dans lesquels les substituants glucidiques répondent aux structures mentionnées ci-dessus. Cette approche permet également l'incorporation d'un substituant autre qu'un dérivé glucidique à la structure, en particulier une sonde de type fluorescent telle qu'un dérivé de la fluorescéine. Les 1-thiosucres précurseurs peuvent être préparés, soit à partir des halogénures de glycosyle correspondants par réaction avec la thiourée suivie d'hydrolyse du sel d'isothiuronium résultant, soit à partir de glycals par addition radicalaire de l'acide thioacétique à la double liaison. On peut suivre pour ces réactions les procédés décrits dans les articles de revue publiés par J. Defaye et J. Gelas dans *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 8 (Editeur Atta.ur Rahman), Elsevier, Amsterdam, 1991, pp. 315-357 et par H. Driguez dans *Top. Curr. Chem.*, 1997, 187, pp. 85-116.

(iii) la transformation du groupement alcool primaire restant en groupement isothiocyanate. Cette transformation peut se faire par exemple par transformation du groupe hydroxyle en un bon groupe partant tel que le *p*-toluènesulfonate ou le trifluorométhanesulfonate, suivi de déplacement nucléophile par l'anion azidure et isothiocyanation de l'azide résultante par réaction avec la triphénylphosphine et le disulfure de carbone. Pour cette transformation, on peut suivre le procédé décrit dans le document *Chem. Commun.*, 2000, pp. 1489-1490.

Les procédés décrits ci-dessus pour l'obtention des cystéaminy- et thiouréido-cystéaminy-cyclodextrines de l'invention sont très intéressants car ils permettent d'obtenir les dérivés souhaités dans un nombre réduit d'étapes et avec des rendements élevés. En plus, ces procédés permettent d'accéder à des dérivés hyperramifiés homogènes et hétérogènes non accessibles commodément par d'autres voies. Ces dérivés sont reconnus de façon très efficace par des lectines membranaires spécifiques, en fonction des substituants glucidiques incorporés.

La présente invention concerne également un complexe d'inclusion d'un composé tel que défini précédemment, avec une molécule pharmacologiquement active, le rapport molaire entre le composé et la molécule pharmacologiquement active étant avantageusement d'environ 50:1 à environ 1:1.

5 L'expression "complexe d'inclusion" désigne l'entité supramoléculaire composée par le composé selon l'invention (molécule hôte) et la molécule pharmacologiquement active (molécule invitée), dans laquelle la molécule invitée est maintenue dans la cavité hydrophobe de la molécule hôte par l'intermédiaire d'interactions non covalentes.

10 L'expression "molécule pharmacologiquement active" désigne un principe actif doté d'activité thérapeutique, tel qu'un agent anticoagulant, antidiabétique, anti-inflammatoire, antibiotique, antitumoral, etc.

La présente invention concerne également un complexe tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que la molécule pharmacologiquement active est un agent antitumoral, appartenant notamment à la famille du Taxol.

15 On peut notamment citer comme agents antitumoraux, les agents antitumoraux non biologiques approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) tels que :

– des agents alkylants : nitrosourées telles que : lomustine, carmustine et streptozocine ; huiles de moutarde telles que : méchloréthamine, melphalan, uracile moutarde à l'azote, chlorambucile, cyclophosphamide et iphosphamide ; autres agents
20 d'alkylation tels que : cisplatine, carboplatine, mitomycine, thiotepane, decarbazine, procarbazine, hexaméthyl mélamine, triéthylène mélamine, bisulfane, pipobromane, et mitotane ;

– des antimétabolites : méthotrexate, trimétrexate, pentostatine, cytarabine, ara-CMP, fludarabine phosphate, hydroxyurée, fluorouracile, floxuridine,
25 chlorodésoxyadénosine, gemcitabine, thioguanine et 6-mercaptopurine ;

– des agents de coupure de l'ADN : bléomycine ; poisons de la topoisomérase I tels que : topotecan, irinotecan, sel de sodium de la camptothécine et des analogues de topotecan et irinotecan ; poisons de la topoisomérase II tels que : daunorubicine, doxorubicine, idarubicine, mitoxantrone, téniposide et étoposide ;

30 – des agents d'intercalation de l'ADN : dactinomycine et mithramycine ;

– des inhibiteurs de la mitose : vinblastine, vincristine, navelbine, paclitaxel et docétaxel.

Un agent antitumoral préféré, appartenant à la famille du Taxol, est le docétaxel (Taxotère®).

On a évalué l'affinité des thiouréidocystéaminy-cyclodextrines de l'invention pour des lectines membranaire spécifiques *in vitro* suivant le protocole ELLA (de l'anglais Enzyme-Linked Lectin Assay). On peut trouver de nombreux exemples d'application de ce protocole dans l'article de revue de J. J. Lundquist et E. J. Toon dans *Chem. Rev.* 2002, 102, pp. 555-578. Cette technique mesure la capacité d'un ligand mono- ou oligosaccharidique soluble d'inhiber l'association entre une lectine complémentaire et un autre ligand de référence fixé sur une microplaque de support plastique. Ainsi, les thiouréidocystéaminy-cyclodextrines portant des substituants α -D-mannopyranosyle sont reconnus par la concanavaline A ou par la lectine spécifique du mannose des macrophages, les dérivés avec des substituants β -lactosyle sont reconnus par la lectine spécifique du lactose d'*Arachys hypogaea* ou des hépatocytes, et les dérivés comportant le substituant tétrasaccharidique sialyl-Lewis X sont reconnus par les sélectines de l'endothélium impliquées dans le processus de l'inflammation.

On observe, de façon générale, une augmentation importante de l'affinité des dérivés de type thiouréidocystéaminy-cyclodextrine vis-à-vis des lectines spécifiques en comparaison avec les conjugués de type thiouréido-cyclodextrine décrits dans le document *ChemBioChem* 2001.

Les thiouréidocystéaminy-cyclodextrines de l'invention comportant des éléments de reconnaissance cellulaire sont utilisables en particulier pour masquer des récepteurs de membrane complémentaires. Ainsi, les thiouréidocystéaminy-cyclodextrines polymannosylés permettent de bloquer le récepteur spécifique du mannose des macrophages, les dérivés polylactosylés le récepteur spécifique de lactose des hépatocytes et les dérivés incorporant des substituants dérivés du tétrasaccharide sialyl Lewis X les sélectines de l'endothélium. Dans ce contexte, ces dérivés sont utilisables en tant que molécules actives pour la prévention et le traitement des processus d'infection et de cancérisation impliquant des phénomènes d'adhésion et, également, pour la prévention et le traitement des maladies liées au dérèglement du processus de l'inflammation.

Ces composés d'inclusion peuvent être préparés par des procédés classiques, par exemple par dispersion de la molécule active en solution ou à l'état pur dans une solution du dérivé de cyclodextrine, en présence ou non d'un cosolvant, comme décrit dans le document WO 97/33919.

Ces complexes d'inclusion peuvent être préparés par exemple en ajoutant à une solution ou à une suspension du composé de l'invention de formule (I) la molécule

pharmacologiquement active en solution ou à l'état pur. Le complexe d'inclusion ainsi formé peut être isolé par lyophilisation.

Dans le cas où on ajoute la molécule pharmacologiquement active en solution, par exemple un agent antitumoral de la famille du Taxol, on utilise une solution concentrée de la molécule dans un solvant organique miscible à l'eau, par exemple l'acétone, et on soumet le mélange obtenu à une agitation et à un barbotage de gaz inerte tel que l'azote, pour éliminer le solvant organique.

Dans le cas des composés de la famille du Taxol, tels que le Taxotère[®], il est aussi possible de disperser ce produit à l'état pur dans une solution stérile d'un composé selon l'invention.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant un composé tel que défini ci-dessus, ou un complexe d'inclusion tel que défini ci-dessus, avec un véhicule pharmacologiquement acceptable.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique telle que définie ci-dessus, sous forme de solution aqueuse.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique telle que définie ci-dessus, caractérisée en ce qu'elle contient par dose unitaire d'environ 50 mg à environ 500 mg de l'un des composés tels que définis précédemment, ou en ce qu'elle contient par dose unitaire d'environ 100 mg à environ 750 mg de l'un des complexes tels que définis ci-dessus.

Ces compositions pharmaceutiques, qui peuvent être administrées par voie orale ou parentérale, sont par exemple des solutions, des poudres, des suspensions, etc., en particulier des solutions injectables.

LÉGENDE DES FIGURES

La Figure 1 représente la variation de l'inhibition de l'association entre la lectine ConA et le mannane de levure en présence des composés n°2, n°3, n°4, n°6 et n°7, ainsi que pour l'heptakis(6-désoxy-6- α -D-mannopyranosylthiouréido)cyclomalto-heptaose (dérivé de la per-(C-6)-amine β -cyclodextrine), en fonction de la concentration de ligand en μ M.

La courbe en trait plein avec les ronds noirs correspond au dérivé heptavalent de la per-(C-6)-amine β -cyclodextrine ; la courbe en trait pointillé avec les croix correspond au composé n°2 ; la courbe en trait plein avec les croix correspond au composé n°3 ; la courbe en trait plein avec les triangles blancs correspond au composé n°4 ; la courbe en trait plein avec les losanges blancs correspond au composé n°6 et la courbe en trait pointillé avec les carrés noirs correspond au composé n°7.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Exemple 1 : Préparation de l'heptachlorhydrate d'heptakis[6-S-(2-aminoéthyl-6-thio)]cyclomaltoheptaose (composé no. 1).

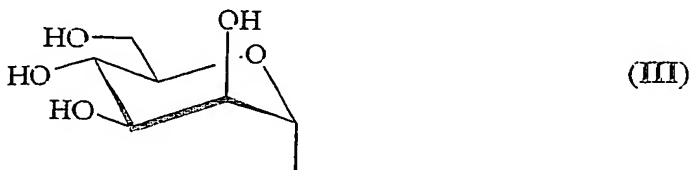
Ce composé répond à la formule (I) donnée ci-dessus avec $n = 1$, $m = 6$, dans laquelle tous les R^1 sont identiques et représentent $S-CH_2-(CH_2)_n-Z$, Z représentant un groupement NH_2 , et a été isolé sous forme de son heptachlorhydrate.

A une solution de chlorhydrate de 2-aminoéthanthiol (999 mg, 8,8 mmol) dans la DMF distillée (10 mL), sous argon, on ajoute la triéthylamine (2,5 mL) en utilisant une seringue. On observe que la suspension devient violette. A cette suspension, on ajoute goutte à goutte une solution de l'heptakis[6-bromo-6-désoxy]cyclomaltoheptaose (1 g) dans la DMF (5 mL). Le mélange réactionnel est agité pendant 48 h à température ambiante. On observe alors l'apparition d'un précipité blanc. Le solide est filtré et solubilisé dans l'eau (20 mL), le pH de la solution est ajusté à 4 par addition d'acide chlorhydrique dilué et finalement la solution est lyophilisée. Le résidu solide est mis en suspension dans l'éthanol à 96 % et la suspension est agitée pendant 30 min, puis filtrée et séchée. On obtient ainsi le composé n° 1 (976 mg, 86%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 81,4^\circ$ (c 1,0 ; eau)
- spectre de masse (électrospray) : m/z 1549 (100%, $[M + Na]^+$)
- solubilité dans l'eau : 500 g.L⁻¹ (323 mmol.L⁻¹)
- données de ¹H RMN (500 MHz, D₂O) : δ 5,03 (7 H, d, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 3,93 (7 H, td, $J_{4,5}$ 9,2 Hz, $J_{5,6b}$ 7,0 Hz, $J_{5,6a}$ 2,0 Hz, H-5), 3,82 (7 H, t, $J_{2,3} = J_{3,4}$ 9,4 Hz, H-3), 3,56 (7 H, dd, H-2), 3,55 (7 H, t, H-4), 3,17 (14 H, t, $^3J_{H,H}$ 6,8 Hz, CH₂N), 3,08 (7 H, dd, $J_{6a,6b}$ 13,5 Hz, H-6a), 2,91 (14 H, t, $^3J_{H,H}$ 6,8 Hz, CH₂S), 2,90 (7 H, dd, H-6b)
- données de ¹³C RMN (125,7 MHz, D₂O) : δ 101,6 (C-1) ; 83,6 (C-4) ; 72,7 (C-3) ; 72,0 (C-2) ; 71,6 (C-5) ; 38,6 (CH₂N) ; 32,7 (C-6) ; 30,0 (CH₂S).

Exemple 2 : Préparation de l'heptakis[6-S-[2-[N'-(α -D-mannopyranosyl)thioureido]éthyl-6-thio]cyclomaltoheptaose (composé no. 2).

Ce composé répond à la formule (II) donnée ci-dessus avec $n = 1$, $m = 6$, X représentant un atome d'hydrogène et R répondant à la formule :



Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (voir exemple 1) avec l'isothiocyanate de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranosyle suivie d'une hydrolyse alcaline du groupement protecteur acétyle.

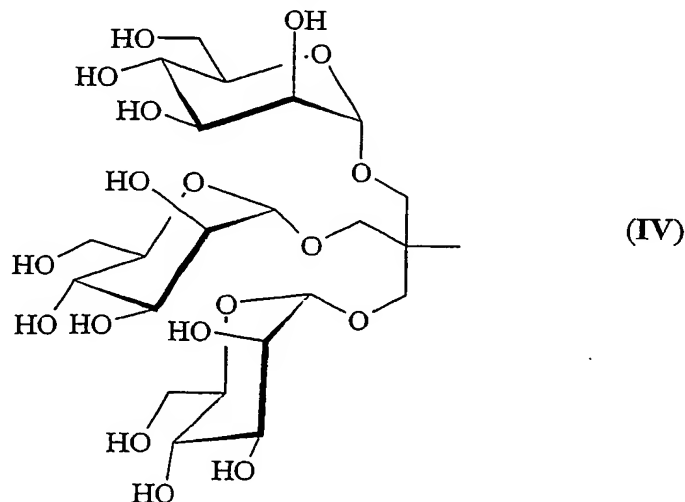
Une solution du composé no. 1 (25 mg, 14 μ mol) dans l'eau (2 mL) est additionnée d'hydrogénocarbonate de sodium solide jusqu'à ce que le pH atteigne des valeurs entre 8 et 9. Après 20 min, une solution d'isothiocyanate de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranosyle (42 mg, 0,11 mmol, 1,1 équiv) dans l'acétone (3 mL) est ajoutée et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 1 h. On évapore l'acétone dans le rotavapor et la solution aqueuse résultante est lyophilisée. Le résidu est repris par le méthanol, filtré et concentré. Le solide résultant est dissous dans le méthanol (6 mL), additionné d'une solution 1 N de méthylate de sodium dans le méthanol (196 μ L, 0,5 équiv) et la solution est agitée à 0°C pendant 5 min. On observe la précipitation d'un solide blanc qui est redissous dans l'eau (8 mL). La solution aqueuse est agitée à 0°C pendant 15 min, neutralisée et déminéralisée par traitement, successivement, avec la résine échangeuse ionique Amberlite IR-120 (H^+) et la résine mixte Duolite MB-6331 (H^+ , OH^-), filtrée et lyophilisée. Après purification par chromatographie de filtration sur gel (Sephadex G-25), on obtient le composé no. 2 (30 mg, 71%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 50,3^\circ$ (c 1,0, eau)
- spectre de masse (MALDITOF) : m/z 3103,9 $[M + H]^+$
- solubilité dans l'eau : 780 g.L⁻¹ (251 mmol.L⁻¹)
- données de 1H RMN (500 MHz, 333 K, D₂O) : δ 5,85 (7 H, bs, H-1') ; 5,43 (7 H, bs, H-1) ; 4,34 (7 H, m, H-2') ; 4,30 (7 H, m, H-6a') ; 4,28 (7 H, m, H-5) ; 4,22 (7 H, m, H-3) ; 4,15 (7 H, d, $J_{6a',6b'}$ 12,0 Hz, H-6b') ; 4,01 (7 H, m, H-3') ; 3,96 (7 H, m, H-

2) ; 3,92 (7 H, t, $J_{3',4'} = J_{4',5'}$ 9,0 Hz, H-4') ; 3,88 (7 H, m, H-4) ; 3,80 (14 H, m, CH₂S) ; 3,75 (7 H, m, H-5') ; 3,72 (14 H, m, CH₂N) ; 3,55 (7 H, m, H-6a) ; 3,53 (7 H, m, H-6b)
 – données de ¹³C RMN (125,7 MHz, 333 K, D₂O) : δ 181,7 (CS) ; 101,7 (C-1) ; 82,5 (C-1') ; 84,1 (C-4) ; 73,5 (C-5') ; 73,0 (C-3) ; 72,0 (C-2, C-5) ; 70,5 (C-3') ; 69,5 (C-2') ; 66,6 (C-4') ; 60,7 (C-6') ; 44,2 (CH₂N) ; 33,2 (C-6) ; 31,6 (CH₂S).

Exemple 3 : Préparation de l'heptakis[6-S-[2-N'-tris(α-D-mannopyranosyloxyméthyl)méthylthiouréido]éthyl-6-thio]cyclomaltoheptaose (composé no. 3).

Ce composé répond à la formule (II) donnée ci-dessus avec n = 1, m = 6, X représentant un atome d'hydrogène et R répondant à la formule :



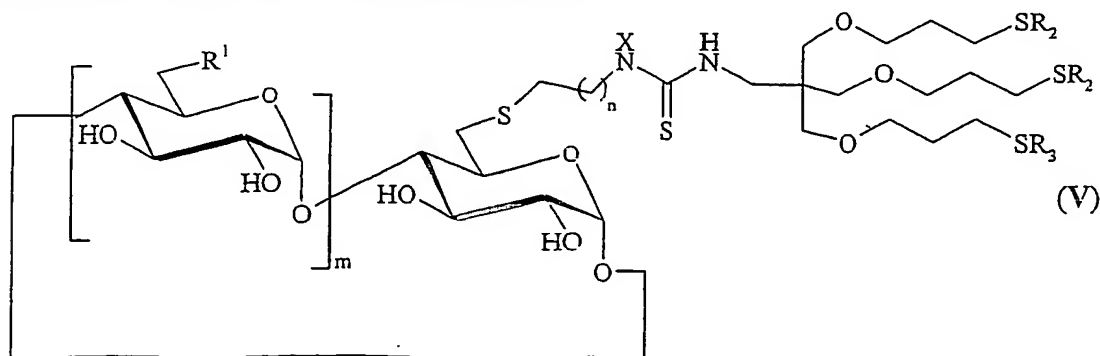
Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (voir exemple 1) avec le tris(2,3,4,6-tetra-O-acétyl-α-D-mannopyranosyloxyméthyl)méthyl isothiocyanate suivi d'une hydrolyse alcaline du groupement protecteur acétyle.

A une solution du composé no. 1 (10 mg, 5.5 μmol), dans l'eau (1 mL), on ajoute l'hydrogénocarbonate de sodium solide jusqu'à que le pH atteigne des valeurs entre 8 et 9. Après 20 min, une solution de tris(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-α-D-mannopyranosyloxyméthyl)méthyl isothiocyanate (45 mg ; 40 μmol ; 1,04 équiv) dans l'acétone (1 mL) est ajoutée et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 4 h. On évapore l'acétone dans le rotavapor et la solution aqueuse résultante est extraite par le dichlorométhane (3 × 5 mL). Le solvant organique est évaporé, le résidu

est dissous dans le méthanol (3 mL) et additionné d'une solution 1 N de méthylate de sodium dans le méthanol jusqu'à pH 8-9 et la solution est agitée à température ambiante pendant 5 min. On observe la précipitation d'un solide blanc qui est redissous par addition d'eau (1 mL). La solution aqueuse est agitée à température ambiante pendant 15 min, neutralisée et déminéralisée par traitement, successivement, avec la résine échangeuse ionique Amberlite IR-120 (H^+) et la résine mixte Duolite MB-6331 (H^+ , OH^-), filtrée et lyophilisée. Après purification par chromatographie de filtration sur gel (Sephadex G-25) on obtient le composé no. 3 (15 mg, 45%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 130,0^\circ$ (c 0,5, eau)
- spectre de masse (MALDITOF) ; m/z 6108,53 ($[M + H]^+$)
- solubilité dans l'eau : 800 g.L^{-1} (131 mmol.L^{-1})
- données de 1H RMN (500 MHz, 343 K, D_2O) : δ 5,53 (7 H, bs, H-1) ; 5,31 (21 H, s, H-1') ; 4,49 (21 H, d, $^2J_{H,H}$ 10,5 Hz, OCH_2a) ; 4,41 (3 H, s, H-2') ; 4,40 (7 H, m, H-5) ; 4,36 (21 H, d, OCH_2b) ; 4,32 (7 H, m, H-3) ; 4,29 (21 H, d, $J_{6a',6b'}$ 12,0 Hz, H-6a') ; 4,21 (14 H, m, CH_2N) ; 4,20 (21 H, dd, $J_{2',3'}$ 4,0 Hz, $J_{3',4'}$ 10,0 Hz, H-3') ; 4,18 (21 H, m, H-6b') ; 4,12 (21 H, t, $J_{4',5'}$ 10,0 Hz, H-4') ; 4,09 (7 H, m, H-2) ; 4,02 (7 H, m, H-5') ; 3,78 (7 H, m, H-4) ; 3,26 (7 H, m, H-6a) ; 3,47 (7 H, m, $J_{5,6b}$ 8,5 Hz, H-6b) ; 3,22 (2 H, m, CH_2S).
- données de ^{13}C RMN (125,7 MHz, 323 K, D_2O) : δ 181,0 (CS) ; 102,6 (C-1) ; 100,9 (C-1') ; 84,3 (C-4) ; 73,7 (C-5') ; 73,5 (C-3) ; 72,6 (C-2, C-5) ; 71,3 (C-3') ; 70,5 (C-2') ; 67,3 (C-4', OCH_2) ; 61,4 (C-6') ; 44,8 (C_q , CH_2N) ; 34,2 (C-6) ; 32,8 (CH_2S).

Les exemples qui suivent se rapportent à des thiouréidocystéaminyl-cyclodextrines hyperramifiées qui comportent un élément multiplicateur dérivé du pentaérythritol répondant à la formule suivante :



Le précurseur universel des glycodendrons utilisés par la synthèse de ces dérivés est le 2,2,2-tris(2-oxapent-4-enyl)éthanol (tri-*O*-allylpentaérythritol), obtenu à partir du pentaérythritol commercial.

Une suspension de pentaérythritol (1,36 g, 10 mmol) dans l'hydroxyde de sodium à 40% aqueux est agitée vigoureusement à 70-75°C pendant 15 min. On ajoute le bromure d'allyle (3,2 mL, 40 mmol, 4 équiv) goutte à goutte et on continue à agiter pendant 1 h. Le mélange réactionnel est extrait par le dichlorométhane (3 × 20 mL) et la phase organique est lavée par l'eau, séchée (sulfate de sodium anhydre) et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 1:4. On obtient ainsi 1,28 g (rendement 50%) d'une huile incolore, présentant les caractéristiques suivantes :

- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 257 (100%, [M + H]⁺)

Exemple 4 : Préparation de l'heptakis[6-*S*-[2-*N'*-[2,2,2-tris[5-(1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl]thiouréido]éthyl-6-thio]cyclomaltoheptaose (composé no. 4).

Ce composé répond à la formule (V) donnée ci-dessus avec $n = 1$, $m = 6$, dans laquelle tous les R¹ sont identiques et représentent CH₂-C[(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₂)₂(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₃)], X représente un atome d'hydrogène, R₂ et R₃ répondant à la formule III (voir exemple no. 2).

Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (voir exemple 1) avec l'isothiocyanate de 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyle suivie d'une hydrolyse alcaline du groupement protecteur acétyle.

1. Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate.

Ce composé est préparé en effectuant les étapes suivantes :

a) Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol.

Une solution de tri-*O*-allylpentaérythritol (0,32 g ; 1,3 mmol) et de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranose (2,12 g ; 5,85 mmol ; 1,5 équiv) dans le méthanol anhydre dégazé et sous argon est irradiée par la lumière ultraviolette à température ambiante pendant 6 h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 1:2. On obtient ainsi 0,81 g (rendement 46%) d'un solide blanc, présentant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 84,6^\circ$ (*c* 1,0 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : *m/z* 1371 (100%, [M + Na]⁺)

b) Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide.

A une solution du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol (1,15 g ; 0,85 mmol) dans le dichlorométhane (5,5 mL) on ajoute la pyridine (402 μ L) et l'anhydride trifluorométhanesulfonique (177 μ L). Le mélange réactionnel est agité pendant 20 min à -25°C, lavé par une solution saturée froide d'hydrogénocarbonate de sodium, séché par le sulfate de magnésium anhydre et concentré. Le résidu est repris par la *N,N*-diméthylformamide et additionné d'azidure de sodium (166 mg ; 2,55 mmol ; 3 équiv). La suspension est agitée à la température ambiante pendant 3 heures et concentrée. Le résidu est repris par le dichlorométhane, lavé par l'eau, séché par le sulfate de magnésium anhydre, concentré et purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 1:2. On obtient ainsi 1,0 g d'un solide blanc (rendement 86%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 83,2^\circ$ (*c* 0,7 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : *m/z* 1396 (100%, [M + Na]⁺)

– c) Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate.

A une solution de 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide (0,15 g ; 0,11 mmol) dans le dioxane (10 mL), on ajoute la triphénylphosphine (32 mg ; 0,12 mmol ; 1,1 équiv) et le disulfure de carbone (0,1 mL ; 1,1 mmol, 10 équiv) et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 h. Le solvant est alors évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 1:1. On obtient ainsi 0,13 g (rendement 85%) d'un solide blanc ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 61,9^\circ$ (c 0,4 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1412 (100%, $[M + Na]^+$)

2. Préparation du composé no. 4.

Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (20 mg, 11,1 μ mol) avec le 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate (160 mg, 115 μ mol, 1,5 équiv) dans l'eau-acétone (1:2, 3 mL) à pH 8-9 (hydrogènocarbonate de sodium solide) comme décrit ci-dessus pour la préparation du composé n° 3. Le mélange réactionnel est agité pendant 48 h à température ambiante, l'acétone est évaporée et la phase aqueuse est extraite par l'acétate d'éthyle (3 \times 5 mL). La phase organique est alors séchée par le sulfate de magnésium anhydre et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un gradient acétonitrile-eau 20:1 à 10:1. Le produit résultant est désacétylé et déminéralisé comme décrit ci-dessus pour la préparation du composé no. 3. Après lyophilisation, on obtient le composé no. 4 (50 mg, 60%) ayant les caractéristiques suivantes :

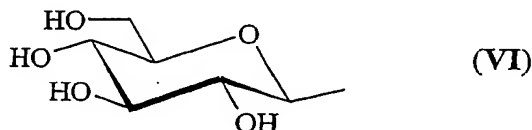
- $[\alpha]_D + 104,0^\circ$ (c 1,0 ; eau)
- spectre de masse (MALDITOF) : m/z 7751,88 ($[M + H]^+$)
- solubilité dans l'eau : 800 g.L⁻¹ (103 mmol.L⁻¹)
- données de ¹H RMN (500 MHz, 353 K, D₂O) : δ 5,82 (21 H, s, H-1') ; 5,61 (7 H, bs, H-1) ; 4,57 (21 H, m, H-2') ; 4,46 (7 H, m, H-5) ; 4,43 (28 H, m, H-3, H-5') ; 4,36 (63 H, m, H-3', H-6'', H-6b') ; 4,29 (21 H, m, H-4') ; 4,23 (14 H, m, CH₂N_{cyst}) ; 4,19 (7 H, m, H-2) ; 4,09 (49 H, m, H-4, H-3_{Pent}) ; 3,96 (56 H, m, CH₂N_{branche}, H-1_{Pent}) ;

3,82 (7 H, m, H-6a) ; 3,50 (7 H, m, H-6b) ; 3,47 (14 H, m, CH₂S_{cyst}) ; 3,26 (42 H, bt, J_{5a,5b} 11,5 Hz, H-5_{Pent}) ; 2,46 (42 H, m, H-4_{Pent})

– données de ¹³C NMR (125,7 MHz, 343 K, D₂O) : δ 181,9 (CS) ; 102,7 (C-1) ; 85,3 (C-1') ; 85,1 (C-4) ; 73,9 (C-5') ; 73,4 (C-3) ; 72,9 (C-2, C-5) ; 72,6 (C-2') ; 72,1 (C-3') ; 71,1 (C-1_{Pent}) ; 70,9 (C-3_{Pent}) ; 67,7 (C-4') ; 61,6 (C-6') ; 46,6 (CH₂N_{cyst}, CH₂N_{branche}) ; 45,0 (C_q) ; 34,1 (C-6) ; 33,2 (CH₂S_{cyst}) ; 29,8 (C-4_{Pent}) ; 28,5 (C-5_{Pent})

Exemple 5 : Préparation de l'heptakis[6-S-[2-N'-[2,2,2-tris[5-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl]thiouréido]éthyl-6-thio]cyclomaltoheptaose (composé no. 5)

Ce composé répond à la formule (V) donnée ci-dessus avec n = 1, m = 6, dans laquelle tous les R¹ sont identiques et représentent CH₂-C[(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₂)₂(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₂)], X représente un atome d'hydrogène, R₂ et R₃ répondent à la formule:



Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (voir Exemple 1) avec le 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate suivi d'une hydrolyse alcaline du groupement protecteur acétyle.

1. Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio-α-D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate.

Ce composé est préparé par les étapes suivantes :

– **a) Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol.**

Ce composé est obtenu à partir du tri-O-allylpentaérythritol (0,32g ; 1,3 mmol) et du 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranose (2,12 g ; 5,85 mmol ; 1,5 équiv) par irradiation avec la lumière ultraviolette (250 nm) comme décrit ci-dessus pour la préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio-α-D-mannopyranosyl)-2-

oxapentyl]éthanol. On obtient ainsi 1,23 g (rendement 70%) d'un solide blanc, présentant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D -22,8^\circ$ (c 0,8 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1371 (100%, $[M + Na]^+$)

b) Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide.

Ce composé est obtenu à partir du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol (1,15 g ; 0,85 mmol) par réaction avec l'anhydride trifluorométhanesulfonique suivi de traitement par l'azidure de sodium comme décrit ci-dessus pour la préparation de la 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-α-D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide. On obtient ainsi 0,73 g d'un solide blanc (rendement 60%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D +78,9^\circ$ (c 0,9 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1396 (100%, $[M + Na]^+$)

c) Préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate.

Ce composé est obtenu par isothiocyanation de la 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide (0,32 g ; 0,23 mmol) par traitement avec la triphénylphosphine (67,1 mg ; 0,26 mmol ; 1,1 équiv) et le disulfure de carbone (0,15 mL ; 2,33 mmol ; 10 équiv) dans le dioxane (10 mL), comme décrit ci-dessus pour la préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-β-D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate. On obtient ainsi 0,26 g (rendement 80%) d'un solide blanc ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 61,9^\circ$ (c 0,4 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1412 (100%, $[M + Na]^+$)

2. Préparation du composé n° 5.

Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (20 mg ; 11,1 μmol) et du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate (160 mg ; 115 μmol ; 1,5 équiv) dans l'eau-acétone (1:2, 3 mL) à pH 8-9 (hydrogénocarbonate de sodium solide) suivi de désacétylation comme décrit ci-dessus

pour la préparation du composé no. 4. Après lyophilisation, on obtient le composé no. 5 (56 mg, 68%) ayant les caractéristiques suivantes :

– $[\alpha] -16.2^\circ$ (c 1,0 ; eau)

– spectre de masse (MALDITOF) : m/z 7751,88 ($[M + H]^+$)

– solubilité dans l'eau: 670 g.L⁻¹ (87 mmol.L⁻¹)

– données de ¹H RMN (500 MHz, 343 K, D₂O) : δ 5,46 (7 H, bd, $J_{1,2}$ 3,0 Hz, H-1) ; 4,86 (21 H, d, $J_{1,2'}$ 9,5 Hz, H-1') ; 4,29 (7 H, m, H-5) ; 4,28 (7 H, m, H-3) ; 4,27 (21 H, d, $J_{6a',6b'}$ 12,0 Hz, H-6a') ; 4,13 (21 H, d, H-6b') ; 4,09 (14 H, m, CH₂N_{cyst}) ; 4,07 (7 H, m, H-2) ; 3,98 (42 H, t, $^3J_{H,H}$ 6,5 Hz, H-3_{Pent}) ; 3,97 (7 H, m, H-4) ; 3,89 (21 H, t, $J_{2,3'} = J_{3',4'} = 9,3$ Hz, H-3') ; 3,84 (98 H, m, H-4', H-5', CH₂N_{branche}, H-1_{Pent}) ; 3,73 (21 H, t, H-2') ; 3,65 (7 H, m, H-6a) ; 3,38 (7 H, m, H-6b) ; 3,32 (14 H, bt, $^3J_{H,H} = 6,5$ Hz, CH₂S_{cyst}) ; 3,22 ; 3,18 (42 H, 2 dt, $J_{5a,5b}$ 13,0 Hz, $J_{4,5}$ 5,5 Hz, H-5_{Pent}) ; 2,33 (42 H, m, H-4_{Pent})

– données de ¹³C RMN (125,7 MHz ; 343 K ; D₂O) : δ 181,4 (CS), 102,6 (C-1) ; 86,3 (C-1') ; 85,1 (C-4) ; 80,5 (C-5') ; 78,0 (C-3') ; 73,4 (C-3) ; 73,2 (C-2') ; 72,8 (C-2, C-5) ; 71,2 (C-1_{Pent}) ; 70,4 (C-3_{Pent}) ; 70,3 (C-4') ; 61,8 (C-6') ; 46,5 (CH₂N_{cyst}, CH₂N_{branche}) ; 45,0 (C_q) ; 34,2 (C-6) ; 33,1 (CH₂S_{cyst}) ; 30,0 (C-4_{Pent}) ; 27,4 (C-5_{Pent})

Exemple 6 : Préparation de l'heptakis[6-S-[2-N'-[2-[5-(1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl]thiouréido]éthyl-6-thio]cyclomaltoheptaose (composé no. 6)

Ce composé répond à la formule (V) donnée ci-dessus, avec $n = 1$, $m = 6$, dans laquelle tous les R₁ sont identiques et représentent CH₂-C[(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₂)₂(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₃)], X représente un atome d'hydrogène, R₂ et R₃ répondant aux formules (VI) et (III), respectivement.

Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (voir Exemple 1) avec le 2-[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate suivi d'une hydrolyse basique du groupement protecteur acétyle.

1. Préparation du 2-[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate.

Ce composé est préparé en effectuant les étapes suivantes :

– a) Préparation du 2-(2-oxapent-4-ényl)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol

Une solution de tri-*O*-allylpentaérythritol (0,20 g ; 0,78 mmol) et de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranose (0,85 g ; 2,34 mmol ; 1 équiv), dans le méthanol anhydre (15 mL) dégazé et sous argon, est irradiée par la lumière ultraviolette (250 nm) à température ambiante pendant 6 h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 3:2. On obtient ainsi 0,58 g (rendement 76%) d'un solide blanc, présentant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D - 26,6^\circ$ (*c* 0,8 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : *m/z* 1007 (100%, [M + Na]⁺)

– b) Préparation du 2-[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol

Une solution de 2-(2-oxapent-4-ényl)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol (0,53 g ; 0,54 mmol) et de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranose (0,29 g ; 0,81 mmol ; 1,5 équiv), dans le méthanol anhydre (35 mL) dégazé et sous argon, est irradiée par la lumière ultraviolette (250 nm) à température ambiante pendant 6 h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 3:1. On obtient ainsi 0,55 g (rendement 76%) d'un solide blanc, présentant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 15,5^\circ$ (*c* 1,0 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : *m/z* 1371 (100%, [M + Na]⁺)

– c) Préparation du 2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide

Ce composé est obtenu à partir de 2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol (0,43 g ; 0,32 mmol) par réaction avec l'anhydride trifluorométhanesulfonique suivie de traitement par l'azidure de sodium comme décrit ci-dessus pour la préparation de la 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide. On obtient ainsi 0,33 g d'un solide blanc (rendement 75%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 8,2^\circ$ (c 1,0 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1396 (100%, $[M + Na]^+$)

– d) Préparation du 2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate

Ce composé est obtenu par isothiocyanation de la 2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide (0,25 g ; 0,18 mmol) par traitement avec la triphénylphosphine (52 mg ; 0,20 mmol ; 1,1 équiv) et le disulfure de carbone (0,11 mL ; 1,80 mmol ; 10 équiv) dans le dioxane (8 mL), comme décrit ci-dessus pour la préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate. On obtient ainsi 0,20 g (rendement 80%) d'un solide blanc ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 9,7^\circ$ (c 1,0 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1412 (100%, $[M + Na]^+$)

2. Préparation du composé no. 6.

Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (20 mg ; 11,1 μ mol) avec le 2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate (160 mg ; 115 μ mol ; 1,5 équiv) dans l'eau-acétone (1:2, 3 mL) à pH 8-9 (hydrogénocarbonate de sodium solide) suivi de désacétylation comme décrit ci-dessus

pour la préparation du composé no. 4. Après lyophilisation, on obtient le composé no. 6 (48 mg, 60%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 25,0^\circ$ (c 1,0 ; eau)
- spectre de masse (MALDITOF) : m/z 7751,88 ($[M + H]^+$)
- solubilité dans l'eau : 700 g.L⁻¹ (91 mmol.L⁻¹)
- données de ¹H RMN (500 MHz, 353 K, D₂O) : δ 5,87 (7 H, s, H-1'_{Man}) ; 5,60 (7 H, bd, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1) ; 5,00 (14 H, d, $J_{1',2'}$ 10,0 Hz, H-1'_{Glc}) ; 4,57 (7 H, m, H-2'_{Man}) ; 4,42 (7 H, m, H-5'_{Man}) ; 4,41 (7 H, m, H-5) ; 4,39 (14 H, d, $J_{6a',6b'}$ 12,0 Hz, H-6a'_{Glc}) ; 4,38 (7 H, m, H-3) ; 4,36 (21 H, m, H-3'_{Man}, H-6a'_{Man}, H-6b'_{Man}) ; 4,29 (7 H, m, H-4'_{Man}) ; 4,25 (14 H, dd, $J_{5',6b'}$ 4,5 Hz, H-6b'_{Glc}) ; 4,22 (14 H, m, CH₂N_{cyst}) ; 4,17 (7 H, d, H-2) ; 4,09 (42 H, t, $J_{3,4}$ 5,5 Hz, H-3_{Pent}) ; 4,08 (7 H, m, H-4) ; 4,02 (14 H, t, $J_{2',3'}$ = $J_{3',4'}$ 9,4 Hz, H-3'_{Glc}) ; 3,96 (84 H, m, H-4'_{Glc}, H-5'_{Glc}, CH₂NH_{branche}, H-1_{Pent}) ; 3,85 (14 H, t, $J_{1',2'}$ 9,4 Hz, H-2'_{Glc}) ; 3,78 (7 H, m, H-6a) ; 3,51 (7 H, m, H-6b) ; 3,46 (14 H, bt, ³J_{H,H} 6,5 Hz, CH₂S_{cyst}) ; 3,34 ; 3,32 (42 H, 2 dt, $J_{5a,5b}$ 13,0 Hz, $J_{4,5}$ 6,0 Hz, H-5_{Pent}) ; 2,45 (42 H, m, H-4_{Pent})
- données de ¹³C RMN (125,7 MHz ; 353 K ; D₂O) : δ 181,9 (CS) ; 102,8 (C-1) ; 86,3 (C-1'_{Glc}) ; 86,0 (C-1'_{Man}) ; 85,3 (C-4) ; 80,7 (C-5'_{Glc}) ; 78,3 (C-3'_{Glc}) ; 74,1 (C-5'_{Man}) ; 73,6 (C-3) ; 73,4 (C-2'_{Glc}) ; 73,0 (C-2, C-5) ; 72,8 (C-2'_{Man}) ; 72,3 (C-3'_{Man}) ; 71,4 (C-1_{Pent}) ; 71,0 (C-3_{Pent}) ; 70,6 (C-4'_{Glc}) ; 67,9 (C-4'_{Man}) ; 62,0 (C-6'_{Glc}) ; 61,7 (C-6'_{Man}) ; 45,1 (C_q) ; 45,0 (CH₂N_{cyst}, CH₂N_{branche}) ; 34,5 (C-6) ; 33,3 (CH₂S_{cyst}) ; 30,4 ; 30,0 (C-4_{Pent}) ; 28,7 ; 27,6 (C-5_{Pent})

Exemple 7 : Préparation de l'heptakis[6-S-[2-N'-[2,2-bis[5-(1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl]thiouréido]éthylthio]cyclomaltoheptaose (composé no. 7)

Ce composé répond à la formule (V) donnée ci-dessus avec $n = 1$, $m = 6$, dans laquelle tous les R₁ sont identiques et représentent CH₂-C[(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₂)₂(CH₂OCH₂CH₂CH₂R₃)], X représente un atome d'hydrogène, R₂ et R₃ répondant aux formules (III) et (VI), respectivement.

Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (voir Exemple 1) avec le 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-

(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate suivie d'une hydrolyse alcaline du groupement protecteur acétyle.

1. Préparation du 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate.

Ce composé est préparé par les étapes suivantes :

- a) Préparation du 2-(2-oxapent-4-ényl)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol

Une solution de tri-*O*-allylpentaérythritol (0.20 g, 0.78 mmol) et 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranose (0,85 g ; 2,34 mmol ; 1 équiv) dans le méthanol anhydre (15 mL), dégazé et sous argon, est irradiée par la lumière ultraviolette (250 nm) à température ambiante pendant 6 h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 1:1. On obtient ainsi 0,55 g (rendement 72%) d'un solide blanc, présentant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 20,2^\circ$ (*c* 0,8 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : *m/z* 1007 (100%, [M + Na]⁺)

- b) Préparation du 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol

Une solution de 2-(2-oxapent-4-ényl)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol (0,49 g ; 0,49 mmol) et de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranose (0,27 g ; 0,66 mmol ; 1,5 équiv), dans le méthanol anhydre (25 mL) dégazé et sous argon, est irradiée par la lumière ultraviolette (250 nm) à température ambiante pendant 6 h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle-éther de pétrole 3:1. On obtient ainsi 0,42 g (rendement 64%) d'un solide blanc, présentant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 29,4^\circ$ (*c* 0,6 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : *m/z* 1371 (100%, [M + Na]⁺)

– c) Préparation du 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide

5 Ce composé est obtenu à partir du 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthanol (0,688 g ; 0,51 mmol), par réaction avec l'anhydride trifluorométhanesulfonique suivi de traitement par l'azidure de sodium comme décrit ci-dessus pour la préparation de la 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide. On obtient ainsi 0,554 g d'un solide blanc (rendement 79%) ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 45,3^\circ$ (c 1,0 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1396 (100%, $[M + Na]^+$)

15 – d) Préparation du 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate

20 Ce composé est obtenu par isothiocyanation du 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl azide (131 mg ; 0,095 mmol) par traitement avec la triphénylphosphine (28 mg ; 0,10 mmol ; 1,1 équiv) et le disulfure de carbone (60 μ L ; 0,95 mmol ; 10 équiv) dans le dioxane (5 mL), comme décrit ci-dessus pour la préparation du 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate. On obtient ainsi 95 mg (rendement 72%) d'un solide blanc ayant les caractéristiques suivantes :

- $[\alpha]_D + 40,8^\circ$ (c 1,0 ; dichlorométhane)
- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 1412 (100%, $[M + Na]^+$)

2. Préparation du composé n° 7.

30 Ce composé est obtenu par condensation du composé no. 1 (20 mg ; 11,1 μ mol) dans l'eau-acétone (1:2 ; 3 mL) avec le 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]-2-[5-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl isothiocyanate (160 mg ; 115 μ mol ; 1,5 équiv), dans l'eau-acétone

(1:2, 3 mL) à pH 8-9 (hydrogénocarbonate de sodium solide), suivie de désacétylation comme décrit ci-dessus pour la préparation du composé no. 4. Après lyophilisation, on obtient le composé no. 7 (40 mg, 52%) ayant les caractéristiques suivantes :

– $[\alpha]_D + 66,0^\circ$ (c 1,0 ; eau)

– spectre de masse (MALDITOF) : m/z 7751,38 ($[M + H]^+$)

– solubilité dans l'eau : 800 g.L⁻¹ (103 mmol.L⁻¹)

– données de ¹H RMN (500 MHz, 353 K, D₂O) : δ 5,67 (14 H, s, H-1'_{Man}) ; 5,47 (7 H, bs, H-1) ; 4,86 (7 H, d, $J_{1',2'}$ 10,0 Hz, H-1'_{Glc}) ; 4,43 (14 H, m, H-2'_{Man}) ; 4,29 (21 H, m, H-5'_{Man}, H-5) ; 4,26 (7 H, m, H-3) ; 4,25 (7 H, d, $J_{6a',6b'}$ 12,0 Hz, H-6a'_{Glc}) ; 4,14 (42 H, m, H-3'_{Man}, H-6a'_{Man}, H-6b'_{Man}) ; 4,14 (14 H, m, H-4'_{Man}) ; 4,09 (7 H, d, H-6b'_{Glc}) ; 4,08 (14 H, m, CH₂N_{cyst}) ; 4,04 (7 H, d, H-2) ; 3,95 (49 H, m, H-3_{Pent}, H-4) ; 3,85 (7 H, t, $J_{2',3'} = J_{3',4'}$ 8,9 Hz, H-3'_{Glc}) ; 3,80 (70 H, m, H-4'_{Glc}, H-5'_{Glc}, CH₂NH_{branche}, H-1_{Pent}) ; 3,71 (7 H, t, H-2'_{Glc}) ; 3,61 (7 H, m, H-6a) ; 3,37 (7 H, m, H-6b) ; 3,32 (14 H, m, CH₂S_{cyst}) ; 3,17 ; 3,12 (42 H, 2 dt, $J_{5a,5b}$ 13,5 Hz, $J_{4,5}$ 6,5 Hz, H-5_{Pent}) ; 2,30 (42 H, t, $J_{3,4}$ 6,5 Hz, H-4_{Pent})

– données de ¹³C RMN (125,7 MHz, 353 K, D₂O) : δ 182,0 (CS) ; 102,7 (C-1) ; 86,1 (C-1'_{Glc}) ; 85,7 (C-1'_{Man}) ; 85,2 (C-4) ; 80,9 (C-5'_{Glc}) ; 78,0 (C-3'_{Glc}) ; 73,9 (C-5'_{Man}) ; 73,1 (C-3) ; 73,0 (C-2'_{Glc}) ; 72,8 (C-2, C-5) ; 72,6 (C-2'_{Man}) ; 72,0 (C-3'_{Man}) ; 71,1 (C-1_{Pent}) ; 70,8 (C-3_{Pent}) ; 70,3 (C-4'_{Glc}) ; 67,7 (C-4'_{Man}) ; 61,8 (C-6'_{Glc}) ; 61,5 (C-6'_{Man}) ; 45,1 (CH₂N_{cyst}, CH₂N_{branche}) ; 45,0 (C_q) ; 34,2 (C-6) ; 33,1 (CH₂S) ; 30,2 ; 29,3 (C-4_{Pent}) ; 28,5 ; 27,5 (C-5_{Pent})

Exemple 8 : Evaluation de l'affinité des thiouréidocystéaminyl-cyclodextrines composés no. 2 à 7 pour la lectine spécifique de mannose concanavaleine A (ConA)

On a évalué l'affinité des composés no. 2 à 7 pour la lectine spécifique de mannose concanavaleine A (ConA) suivant le protocole ELLA. On obtient ainsi la concentration des composés no. 2 à 7 nécessaire pour inhiber à 50% l'association de la ConA à un ligand de référence (le mannane de levure dans notre cas) fixé sur la cellule d'une plaque de microtitration (IC₅₀). Les valeurs d'IC₅₀ sont inversement proportionnelles aux affinités respectives.

Les cellules d'une plaque de microtitration (Nunc-InmunoTM plates, MaxiSorpTM) sont chargées avec 100 µL d'une solution mère de mannane de levure (Sigma, 10 µg.mL⁻¹) dans une solution tampon phosphate saline (PBS ; pH 7,3 contenant Ca²⁺ 0,1 mM et Mn²⁺ 0,1 mM) pendant une nuit à température ambiante. Les cellules sont lavées (3 × 300 µL) par une solution tampon contenant 0,05% (v/v) de Tween 20 (PBST). Ce protocole de lavage est répété après chaque incubation pendant l'essai. Les cellules sont alors additionnées d'une solution d'albumine du sérum bovin (BSA, 1%) dans le PBS (150 µL/cellule) suivi d'incubation pendant 1 h à 37°C, puis lavées.

Pour déterminer la concentration de lectine optimale pour les études d'inhibition, on ajoute dans les cellules chargées avec le mannane, et traitées comme indiqué ci-dessus 100 µL d'une série de solutions de concanavaline A marquée avec la peroxydase de radis de 10⁻¹ à 10⁻⁵ mg.mL⁻¹ dans le PBS. Après incubation à 37°C pendant 1 h, les plaques sont lavées (PBST) et additionnées d'une solution (50 µL) du sel de diammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS, 1 mg dans 4 mL) dans le tampon citrate (0,2 M, pH 4,0 avec 0,015% d'eau oxygénée). La réaction est arrêtée après 20 min par addition de 50 µL/cellule d'acide sulfurique 1 M et les absorbances sont mesurées à 415 nm utilisant un lecteur ELISA. Les cellules témoin contenaient le tampon citrate-phosphate. La concentration de lectine marquée avec la peroxydase donnant une valeur d'absorbance entre 0,8 et 1,0 (typiquement entre 10⁻² et 10⁻³ mg.mL⁻¹) a été utilisée dans les essais d'inhibition.

Pour les essais d'inhibition, on a utilisé des solutions mères des composés no. 2 à 7 à une concentration de 5 à 7 mg.mL⁻¹ dans le PBS. Dans une série d'expériences, les solutions de chaque composé (60 µL/cellule) dans le PBS, diluées séquentiellement au double, sont additionnées de ConA marquée à la peroxydase de radis de concentration appropriée comme indiqué ci-dessus (60 µL/cellule) dans une plaque de microtitration NunclonTM (Delta) qui est incubée à 37°C pendant 1 h. Les solutions (100 µL/cellule) sont alors transférées sur une plaque de microtitration chargée avec le mannane et traitée comme indiqué ci-dessus, laquelle est ensuite incubée à 37°C pendant 1 h. Les cellules sont lavées (PBST) et additionnées de la solution de l'ABTS (50 µL/cellule). Après 20 min, la réaction est arrêtée (acide sulfurique) et les absorbances sont mesurées. Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A_{\text{en absence d'inhibiteur}}}{A_{\text{en présence d'inhibiteur}}} \times 100$$

Dans le Tableau 1 qui suit, on donne les valeurs d'IC₅₀ pour les composés n° 2 à 7 (moyenne de trois expériences indépendantes) en comparaison avec la valeur correspondante pour le méthyl- α -D-glucopyranoside, utilisé comme ligand monovalent de référence. On observe une augmentation importante de l'affinité pour la lectine dans le cas des dérivés hyperramifiés comportant des substituants mannopyranosyle.

Tableau 1. Données ELLA pour l'inhibition de l'association entre le mannane de levure et la lectine ConA marquée par la peroxydase de radis.

	Composé						
	Me- α -D-Glcp	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
IC ₅₀ (μ M)	865	175	21	5	n.i. ^a	18	13
Affinité relative	1	4,9	41	173	---	48	67
Affinité molaire relative	1	0,7	2,0	8,2	---	6,9	4,8

^a Pas d'inhibition significative détectée à la concentration de 5 mM.

La Figure 1 représente la variation de l'inhibition de l'association entre la lectine ConA et le mannane de levure par les composés n°2, n°3, n°4, n°6 et n°7, du type thiouréidocystéaminyl-cyclodextrine, ainsi que pour l'heptakis(6-désoxy-6- α -D-mannopyranosylthiouréido)cyclomaltoheptaose, un dérivé heptavalent du type thiouréido-cyclodextrine décrit dans le document *ChemBioChem* 2001, en fonction de la concentration du ligand mannosylé. Une comparaison des courbes pour le composé n°2 et pour le dérivé de la per-(C-6)-amine montre une augmentation remarquable de l'affinité pour la lectine du fait de l'introduction de l'espaceur cystéaminyle. On observe, par ailleurs, une augmentation beaucoup plus importante de l'affinité lorsque les ligands mannopyranosyle sont incorporés dans une structure du type hyperramifié (voir courbes pour les composés n°3, n°4, n°6 et n°7).

Ainsi, la concentration du composé no. 2 nécessaire pour inhiber 50% de l'association entre la concanavaline A et le mannane de levure fixé sur la microplaque (IC₅₀), est de 175 μ M, alors que pour l'heptakis(6-désoxy-6- α -D-mannopyranosylthiouréido)cyclomaltoheptaose, un dérivé heptavalent du type thiouréido-cyclodextrine, l'inhibition à la même concentration n'atteint que 8% de la

valeur précédente. L'efficacité du phénomène de reconnaissance est encore beaucoup plus élevée pour les thiouréidocystéaminy-cyclodextrines hyperramifiées. Ainsi, les valeurs d'IC₅₀ pour les composés n° 3, n° 4, n° 6 et n° 7 sont comprises entre 5 et 21 µM, c'est-à-dire entre un et deux ordres de magnitude plus bas que la valeur trouvée pour le composé no. 2. Dans le même temps, la sélectivité dans la reconnaissance entre le marqueur glucidique placé sur la cyclodextrine et la lectine spécifique reste intacte. Ainsi, le composé no. 6 qui ne comporte que des substituants β-D-glucopyranosyle, n'est pas reconnu par la ConA, une lectine spécifique du ligand α-D-mannopyranosyle. On n'observe pas de phénomènes de reconnaissance non spécifiques imputables à la présence de la cyclodextrine.

Exemple 9 : Inclusion du Taxotère dans l'heptachlorhydrate d'heptakis[6-S-(2-aminoéthyl-6-thio)]cyclomaltoheptaose (composé no. 1)

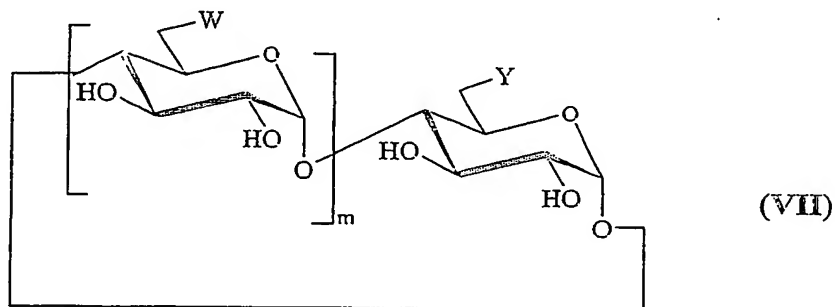
On part du Taxotère à l'état pur et on disperse 2,1 mg (2,47 mmol) de ce produit dans 1 mL d'une solution contenant 50 mmol.L⁻¹ du composé no. 1 dans l'eau stérile, puis on agite la suspension obtenue à 70°C jusqu'à obtention d'une solution claire qui indique la complexation du Taxotère. Une fois formé, le complexe reste en solution à température ambiante. On obtient ainsi une augmentation de la solubilité du Taxotère (2,1 g.L⁻¹) de l'ordre de 525 fois par rapport à celle du Taxotère en l'absence de cyclodextrine (0,004 g.L⁻¹).

Exemple 10 : Inclusion du Taxotère dans l'heptakis[6-S-[2-N'-[2,2,2-tris[5-(1-thio-α-D-mannopyranosyl)-2-oxapentyl]éthyl]thiouréido]éthyl-6-thio]cyclomaltoheptaose (composé no. 4)

On part du Taxotère à l'état pur et on disperse 0,2 mg (235 µmol) de ce produit dans 0,1 mL d'une solution contenant 50 mmol.L⁻¹ du composé no. 4 dans l'eau stérile, puis on agite la suspension obtenue à 70°C jusqu'à obtention d'une solution claire qui indique l'encapsulation du Taxotère. Une fois formé, le complexe reste en solution à température ambiante. On obtient ainsi une augmentation de la solubilité du Taxotère (2,0 g.L⁻¹) de l'ordre de 500 fois celle du Taxotère en l'absence de cyclodextrine.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un procédé comprenant une étape de réaction d'un composé
sélectivement ou totalement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII)
suivante :



m représentant un nombre entier égal à 5, 6 ou 7,

W représentant un groupe OH ou un groupe Y, les groupes W étant tous
identiques,

et Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore,
du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

avec un ω -aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,

ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :



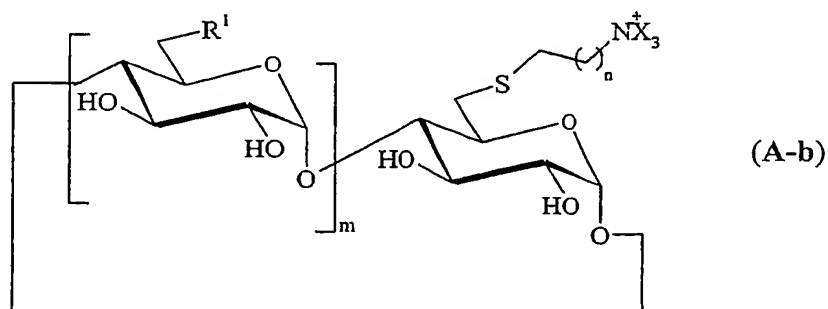
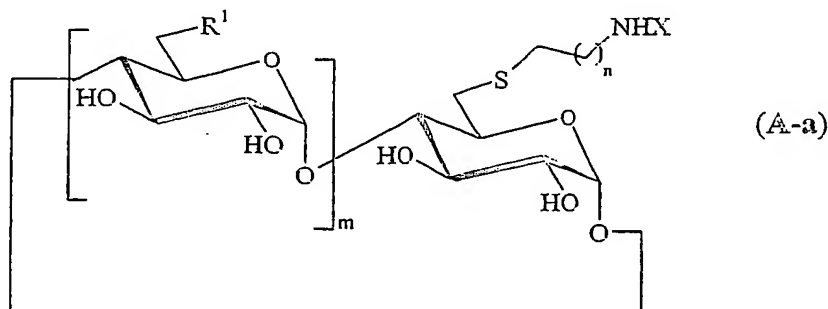
ledit sel étant associé à un contre-ion halogénure, de préférence l'ion chlorure,

n représentant un nombre entier compris de 1 à 6,

X représentant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, et étant notamment un groupe méthyle, éthyle, propyle ou butyle, X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

afin d'obtenir un composé répondant aux formules suivantes (A-a) ou (A-b) :

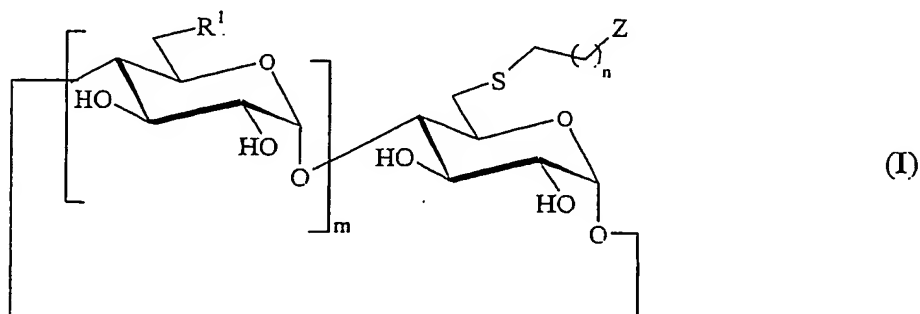


R_1 représentant soit un groupe OH soit un groupe $-\text{S}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{Z}$, tous les R_1 étant identiques,

Z représentant un groupe NHX ou un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+\text{NX}_3$,

m, n et X étant tels que définis ci-dessus,

pour la préparation de composés de formule (I) suivante :



dans laquelle :

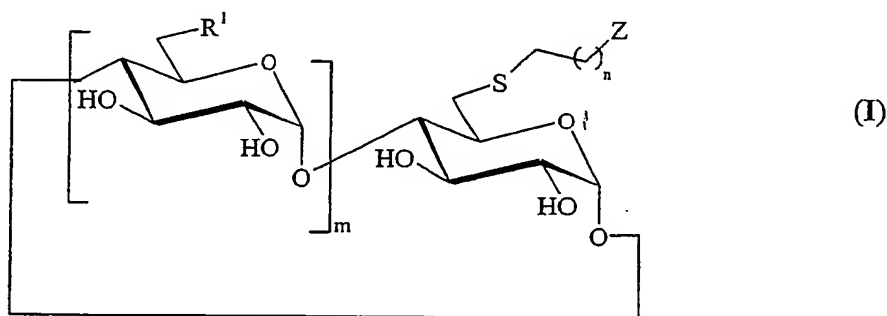
- m, n et R^1 sont tels que définis ci-dessus, et
- Z représente soit :
 - * un groupe NHX ,
 - * un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+N\bar{X}_3$,
 - * un groupe $NX-\overset{\text{NHR}}{\underset{\text{S}}{\parallel}}C$,

X étant tel que défini ci-dessus, et

R représentant un atome d'hydrogène, un substituant alkyle de 1 à 12 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou un groupe aromatique tel que le groupe phényle, benzyle ou naphthyle, ou des dérivés de ces groupements portant des substituants sur le cycle aromatique tels que les substituants méthyle, éthyle, chlore, brome, iode, nitro, hydroxyle, méthoxyle ou acétamido,

ou R représentant un élément de biorecognition tel qu'un dérivé d'acide aminé, un peptide, un monosaccharide, un oligosaccharide, un élément de multiplication à plusieurs ramifications comportant des groupements glucidiques qui peuvent être identiques ou différents, ou une sonde de visualisation ou de détection fluorescente ou radioactive.

2. Procédé de préparation d'un composé de formule (I)



dans laquelle :

- n représente un nombre entier compris de 1 à 6 ;
- m représente un nombre entier égal à 5, 6 ou 7 ;
- R^1 représente soit un groupe OH soit un groupe $-S-CH_2-(CH_2)_n-Z$, tous les R^1 étant identiques ;

– Z représente soit :

- * un groupe NHX,
- * un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+NX_3$,
- * un groupe $NX-C(=S)NHR$,

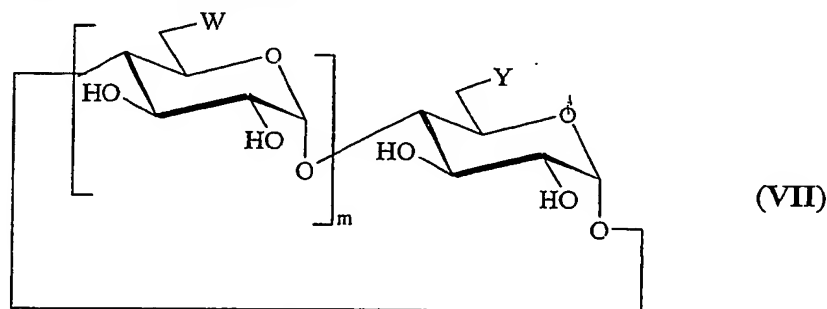
X représentant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, et étant notamment un groupe méthyle, éthyle, propyle ou butyle, et

R représentant un atome d'hydrogène, un substituant alkyle de 1 à 12 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou un groupe aromatique tel que le groupe phényle, benzyle ou naphthyle, ou des dérivés de ces groupements portant des substituants sur le cycle aromatique tels que les substituants méthyle, éthyle, chlore, brome, iode, nitro, hydroxyle, méthoxyle ou acétamido,

ou R représentant un élément de biorecognition tel qu'un dérivé d'acide aminé, un peptide, un monosaccharide, un oligosaccharide, un élément de multiplication à plusieurs ramifications comportant des groupements glucidiques qui peuvent être identiques ou différents, ou une sonde de visualisation ou de détection fluorescente ou radioactive.

ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

– la réaction d'un composé sélectivement ou totalement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m étant tel que défini ci-dessus,

W représentant un groupe OH ou un groupe Y, les groupes W étant tous identiques,

et Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

avec un ω -aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,

ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



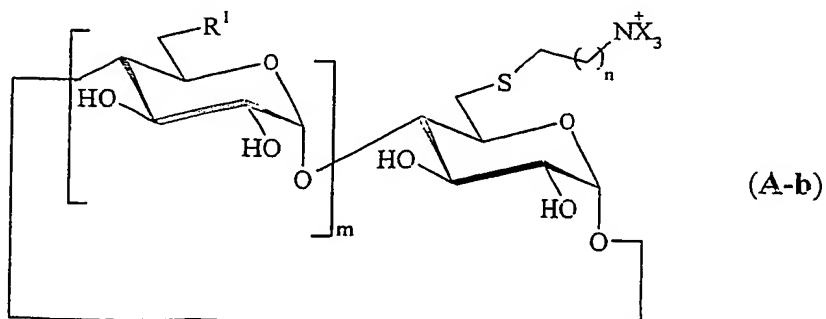
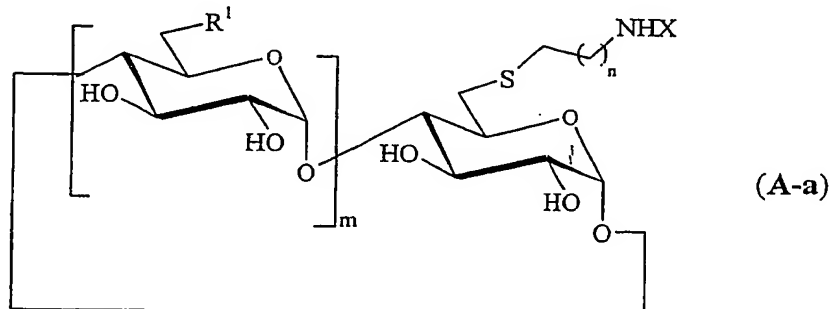
ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :



ledit sel étant associé à un contre-ion halogénure, de préférence l'ion chlorure, n et X étant tels que définis ci-dessus, et X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

afin d'obtenir un composé de formule (I) tel que défini ci-dessus et répondant aux formules suivantes (A-a) ou (A-b) :



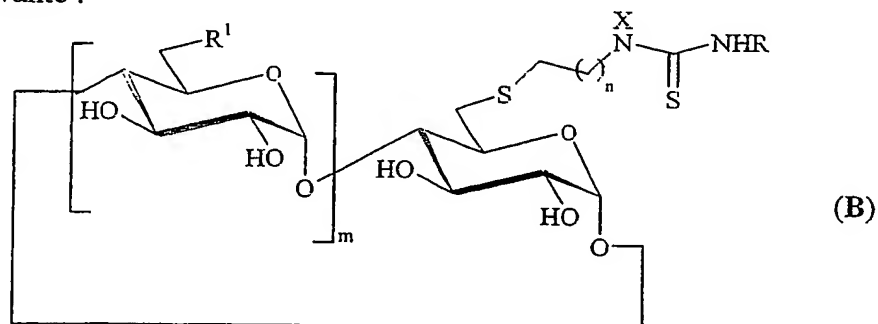
et éventuellement

– la réaction du composé de formule (A-a) tel qu'obtenu à l'étape précédente avec un isothiocyanate de formule (IX) suivante :

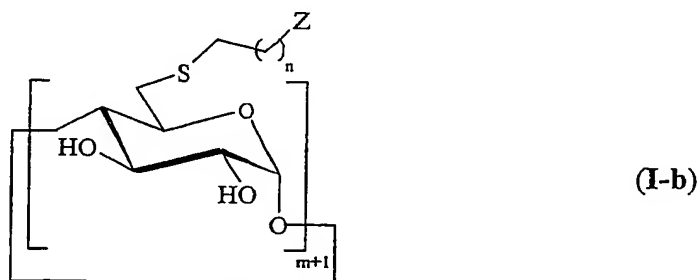


dans laquelle R est tel que défini ci-dessus,

afin d'obtenir un composé de formule (I) telle que définie ci-dessus, et répondant à la formule suivante :

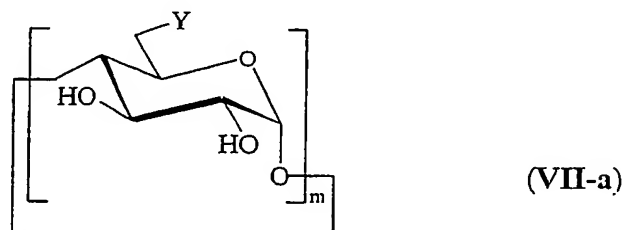


3. Procédé de préparation selon la revendication 2, d'un composé répondant à la formule générale (I-b) suivante :



ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

– la réaction d'un composé per(6-désoxy-6-halo) cyclodextrine, de formule (VII-a) suivante :



m et Y étant tels que définis dans la revendication 2, avec un ω-aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ledit ω -aminoalcanethiol étant éventuellement N-alkylé,
ou le sel correspondant de formule (VIII-a) suivante :



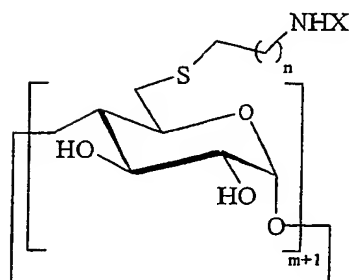
ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :



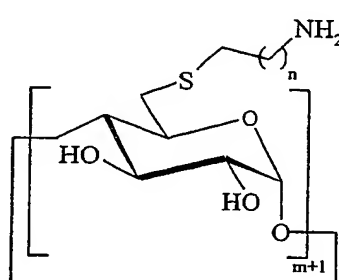
ledit sel étant associé à un contre-ion halogénure, de préférence l'ion chlorure,
n et X étant tels que définis dans la revendication 2, et X étant de préférence un
atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule
 $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

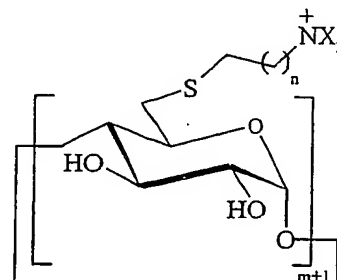
afin d'obtenir un composé de formules (I-c), (I-d) ou (I-e) suivantes



(I-c)



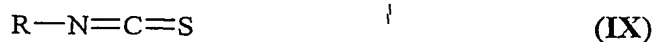
(I-d)



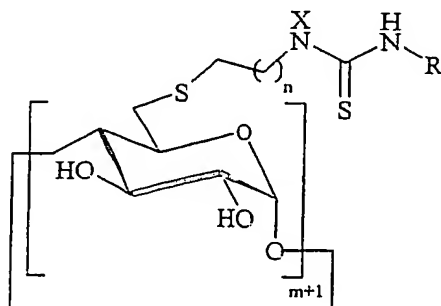
(I-e)

et éventuellement

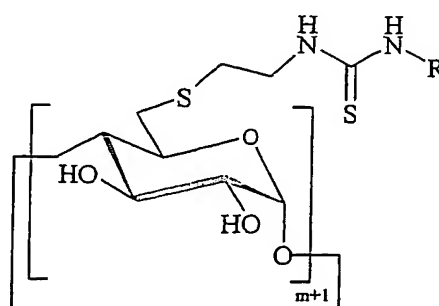
– la réaction du composé de formule (I-c) tel qu'obtenu à l'étape précédente avec
un isothiocyanate de formule (IX) suivante :



dans laquelle R est tel que défini dans la revendication 2,
afin d'obtenir un composé de formule (II) ou (II-a) suivante

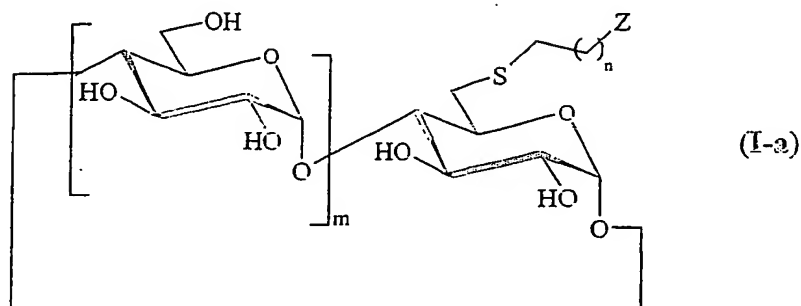


(II)



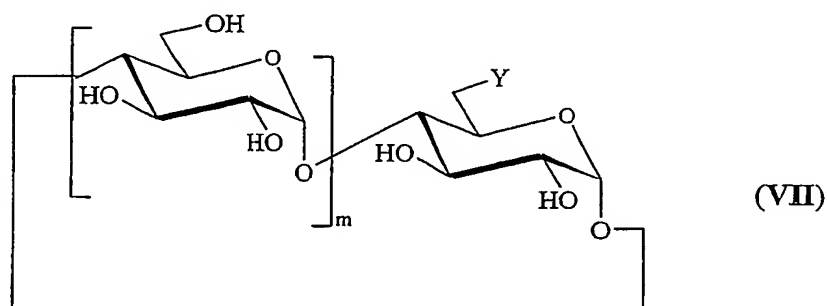
(II-a)

4. Procédé de préparation selon la revendication 2, de composés répondant à la formule suivante :



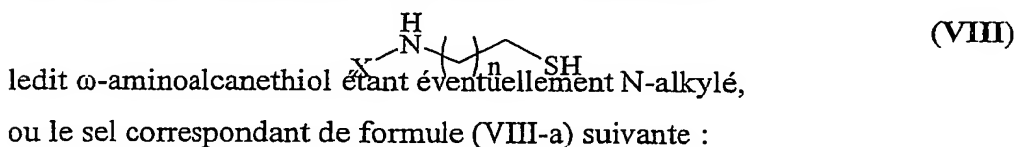
ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

– la réaction d'un composé sélectivement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m et Y étant tels que définis dans la revendication 2, et

avec un ω-aminoalcanethiol de formule (VIII) suivante :



ou un sel de tétraalkylammonium de formule (VIII-b) suivante :

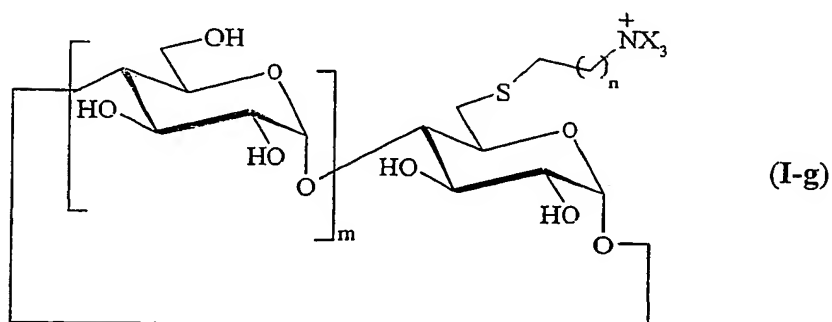
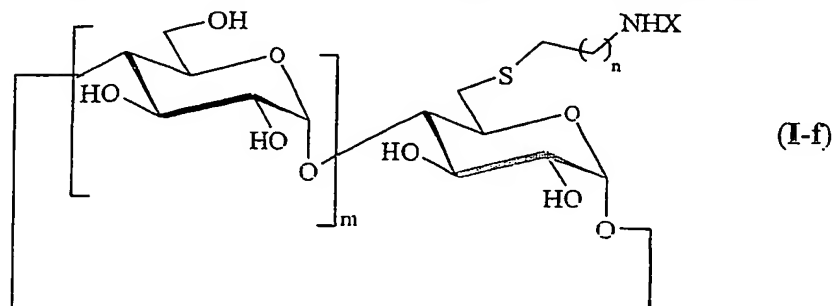


ledit sel étant associé à halogénure comme contre-ion, et étant de préférence l'ion chlorure,

n et X étant tels que définis dans la revendication 2, et X étant de préférence un atome d'hydrogène,

le composé de formule (VIII) étant de préférence la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$,

afin d'obtenir un composé de formule (I-f) ou (I-g), de formule suivante :



dans lesquelles m , n et X sont tels que définis dans la revendication 2,

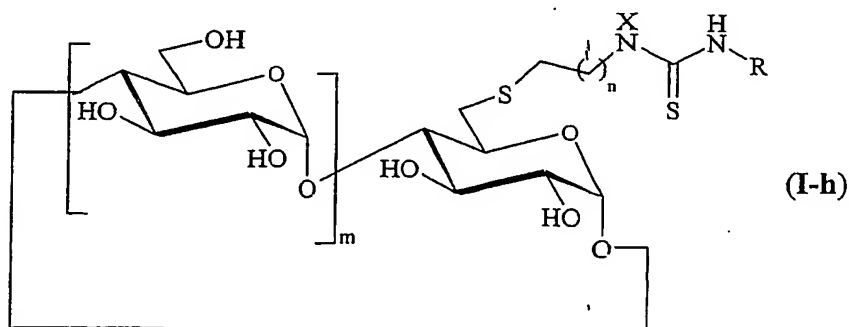
et éventuellement

– la réaction du composé de formule (I-f) tel qu'obtenu à l'étape précédente avec un isothiocyanate de formule (IX) suivante :

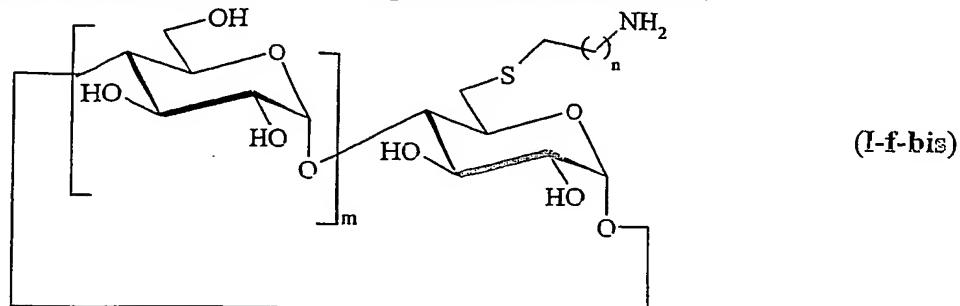


dans laquelle R est tel que défini dans la revendication 2,

afin d'obtenir un composé de formule (I-h) :

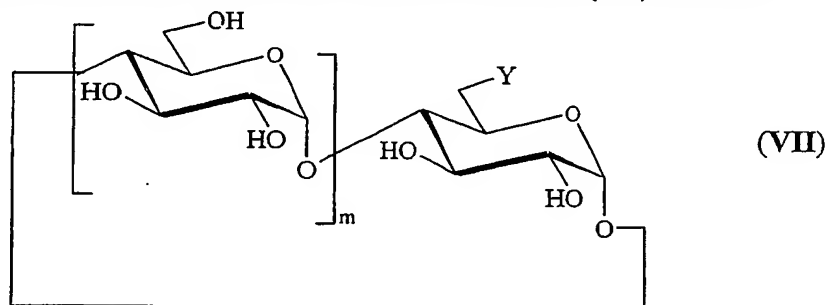


5. Procédé de préparation d'un composé de formule (I-f-bis)



dans laquelle m et n sont tels que définis dans la revendication 2, n étant de préférence égal à 1,

ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend la réaction d'un composé sélectivement halogéné en position alcool primaire, de formule (VII) suivante :



m étant tel que défini ci-dessus, et

Y représentant un atome d'halogène choisi dans le groupe constitué du chlore, du brome, de l'iode, et étant de préférence le brome ou l'iode,

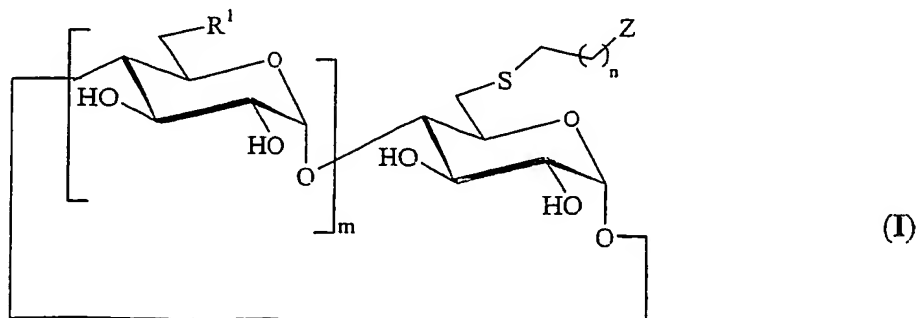
avec un ω-aminoalcanethiol de formule suivante :



n étant tel que définis ci-dessus,

ou de préférence avec la cystéamine de formule $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$.

6. Composé répondant à la formule générale suivante :



dans laquelle :

- n représente un nombre entier compris de 1 à 6 ;
- m représente un nombre entier égal à 5, 6 ou 7 ;
- R^1 représente soit un groupe OH soit un groupe $-S-CH_2-(CH_2)_n-Z$, tous les R^1 étant identiques ;

- Z représente soit :

- * un groupe NHX ,
- * un groupe ammonium quaternaire de la forme $^+NX_3$,
- * un groupe $NX-C(=S)-NHR$,

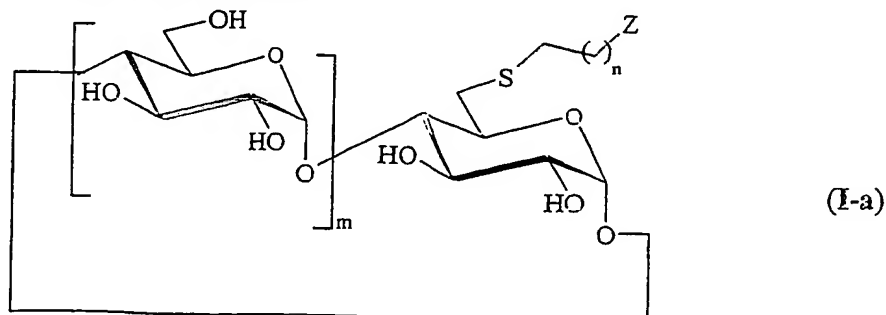
X représentant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, et étant notamment un groupe méthyle, éthyle, propyle ou butyle, et

R représentant un atome d'hydrogène, un substituant alkyle de 1 à 12 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou un groupe aromatique tel que le groupe phényle, benzyle ou naphthyle, ou des dérivés de ces groupements portant des substituants sur le cycle aromatique tels que les substituants méthyle, éthyle, chlore, brome, iode, nitro, hydroxyle, méthoxyle ou acétamido,

ou R représentant un élément de biorecognition tel qu'un dérivé d'acide aminé, un peptide, un monosaccharide, un oligosaccharide, un élément de multiplication à plusieurs ramifications comportant des groupements glucidiques qui peuvent être identiques ou différents, ou une sonde de visualisation ou de détection fluorescente, ou radioactive,

sous réserve que le composé dans lequel $n = 1$, $m = 6$, $Z = NH_2$ et $R_1 = OH$ soit exclu.

7. Composé selon la revendication 6, caractérisé en ce que R^1 représente OH, et répondant à la formule générale suivante :



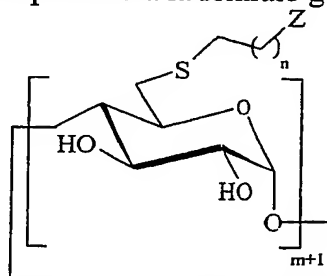
dans laquelle :

— m, n et Z sont tels que définis dans la revendication 6.

3. Composé selon la revendication 7, répondant à la formule (I-a) et caractérisé en ce que Z représente un groupe $\text{NH}\bar{\text{X}}$, $\bar{\text{X}}$ étant tel que défini dans la revendication 6, et étant notamment un atome d'hydrogène.

9. Composé selon la revendication 7, répondant à la formule (I-a) et caractérisé en ce que Z représente un groupe $\text{NX}=\text{NHR}$, R étant tel que défini dans la revendication 6, et X étant tel que défini dans la revendication 6, et étant notamment un atome d'hydrogène.

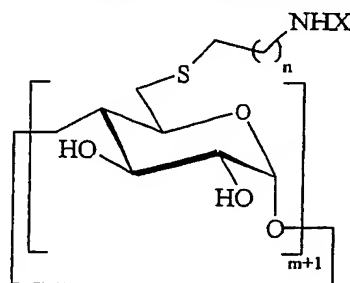
10. Composé selon la revendication 6, caractérisé en ce que R^1 représente un groupe $-\text{S}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{Z}$, et répondant à la formule générale suivante :



(I-b)

dans laquelle m, n et Z sont tels que définis dans la revendication 6.

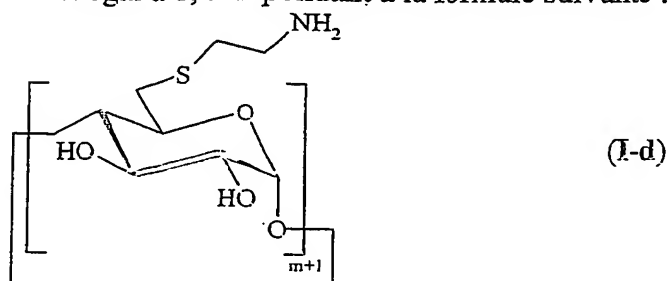
11. Composé selon la revendication 10, répondant à la formule suivante :



(I-c)

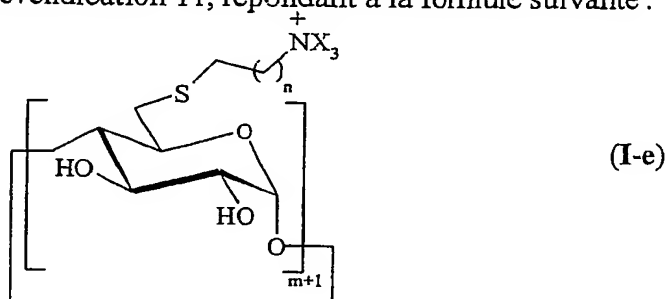
$\bar{\text{X}}$, n et m étant tels que définis dans la revendication 6.

12. Composé selon la revendication 11, caractérisé en ce que X représente un atome d'hydrogène et en ce que n est égal à 1, et répondant à la formule suivante :



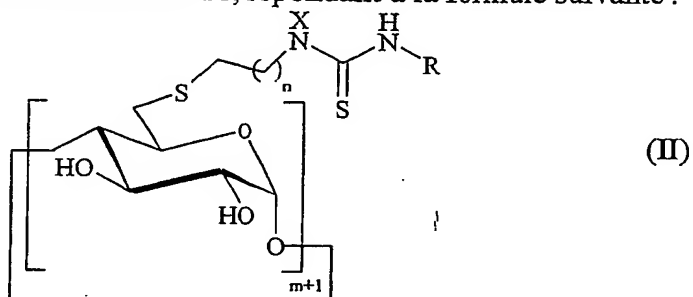
m étant tel que défini dans la revendication 6.

13. Composé selon la revendication 11, répondant à la formule suivante :



X, n et m étant tels que définis dans la revendication 6.

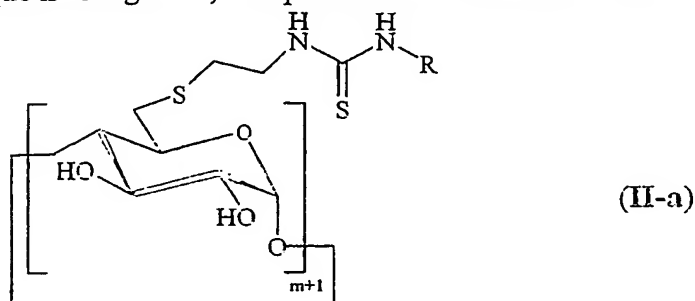
14. Composé selon la revendication 11, répondant à la formule suivante :



X, n, m et R étant tels que définis dans la revendication 6, et R étant identique pour chaque groupe $\text{NX}-\text{C}(=\text{O})-\text{NHR}$ tel que défini dans la revendication 6.



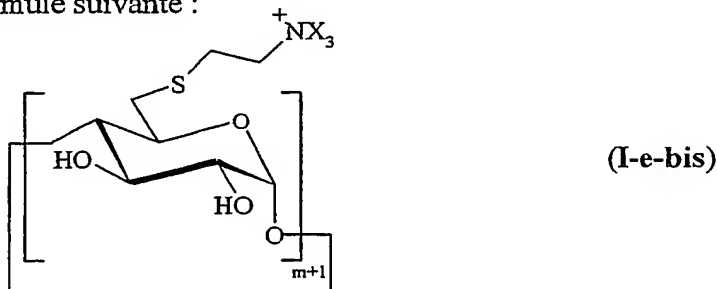
15. Composé selon la revendication 14, caractérisé en ce que X représente un atome d'hydrogène et en ce que n est égal à 1, et répondant à la formule suivante :



R et m étant tels que définis dans la revendication 6.

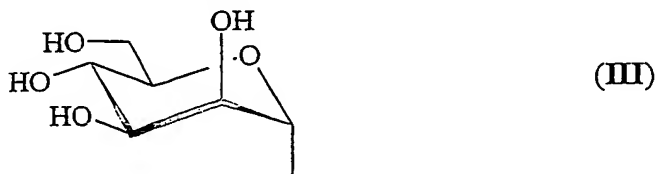
16. Composé selon l'une quelconque des revendications 6 à 15, caractérisé en ce que l'un au moins des groupes NHX tels que définis ci-dessus est protoné et associé à un anion monovalent choisi notamment parmi l'ion chlorure, bromure ou iodure.

17. Composé selon la revendication 11, caractérisé en ce que n est égal à 1 et en ce que le groupe Z représente le groupe ammonium quaternaire $^+NX_3$, et en ce qu'il peut être associé à un anion monovalent choisi notamment parmi l'ion chlorure, bromure ou iodure, et répondant à la formule suivante :

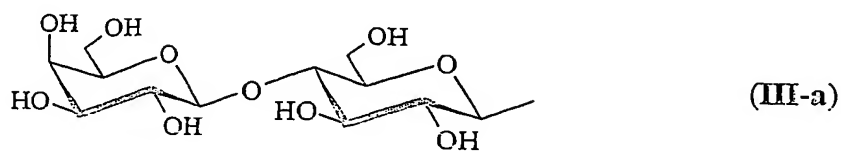


18. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le groupement R est choisi parmi les groupes suivants :

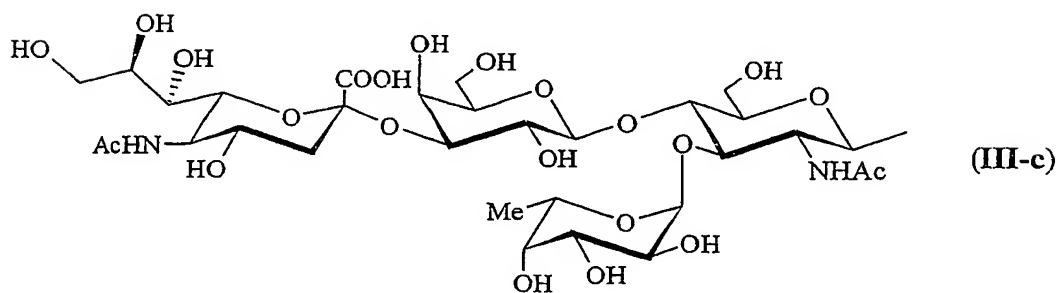
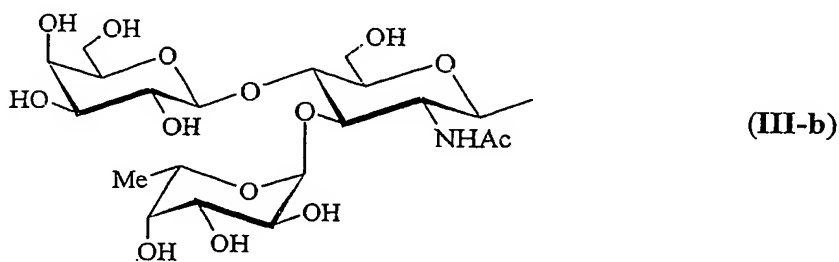
— le groupe α -D-mannopyranosyle, de formule suivante (III) :



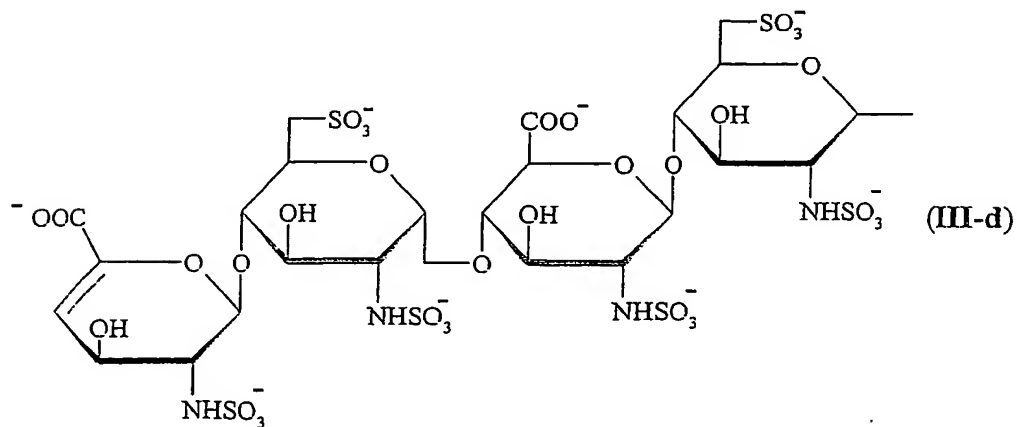
- le groupe β -lactosyle, de formule suivante (III-a) :



- le groupe dérivé du trisaccharide Lewis X ou du tétrasaccharide sialyl Lewis X, respectivement de formule suivante (III-b) et (III-c) :



- un oligosaccharide dérivé de l'héparine, de formule suivante (III-d) :

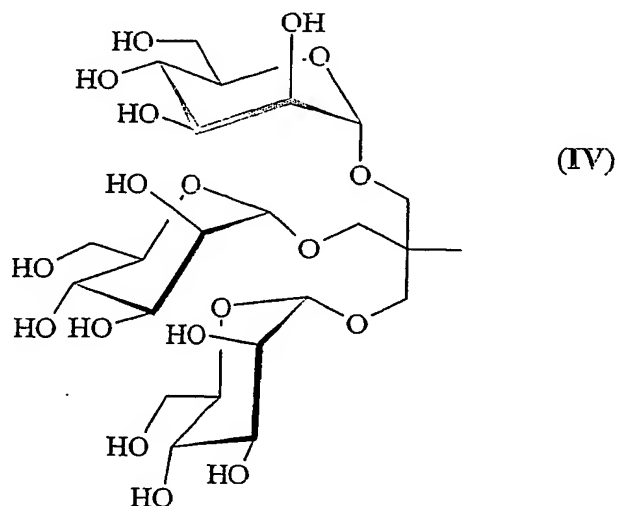


19. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que :

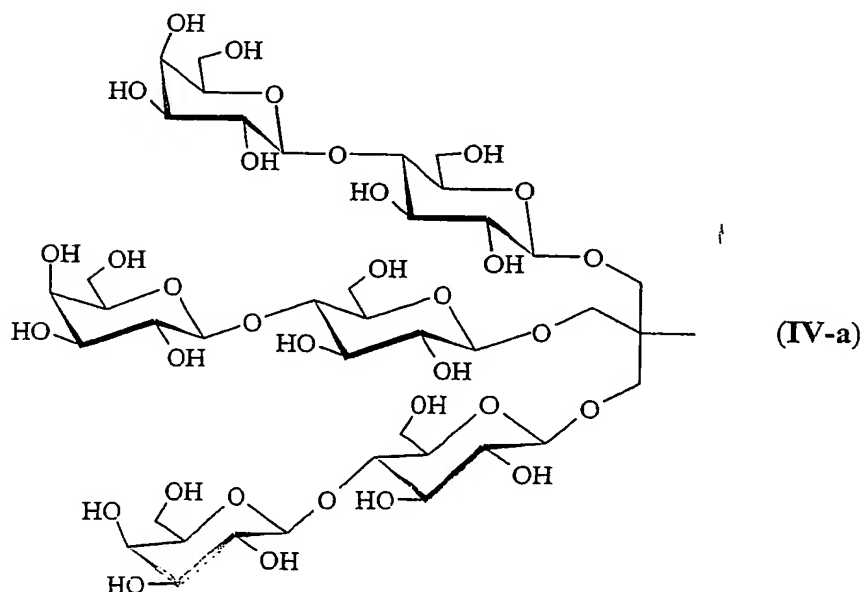
R comporte un élément de ramification dérivé du tris(2-hydroxyméthyl)méthylamine, ou

R représente l'un des groupes suivants :

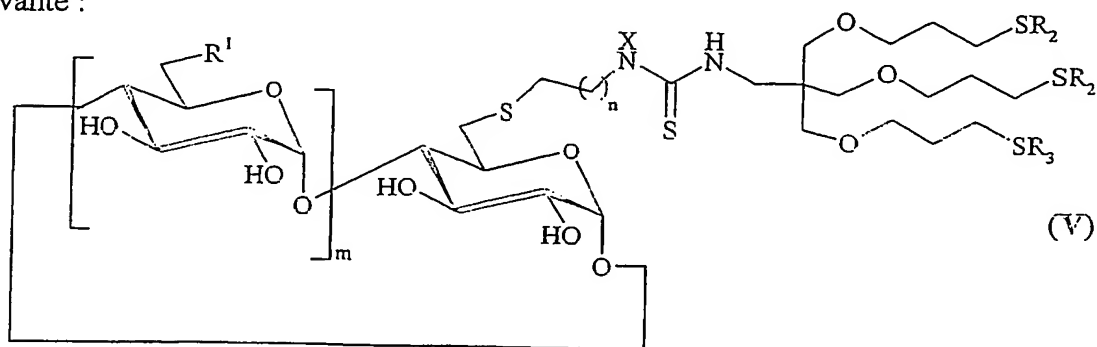
– le groupe tris(α -D-mannopyranosyloxyméthyl)méthyle, de formule suivante (IV) :



– le groupe tris(β -lactosyloxyméthyl)méthyle, de formule suivante (IV-a) :



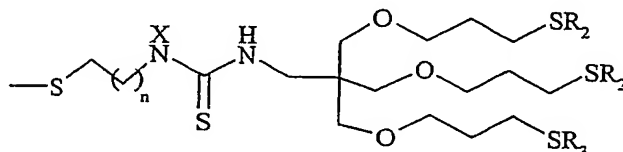
20. Composé selon la revendication 9, caractérisé en ce que R comporte un élément de ramification dérivé du pentaérythritol, ledit composé répondant à la formule suivante :



dans laquelle m, n, R¹ et X sont tels que définis dans la revendication 6, et R² et R³ représentent des dérivés glucidiques qui peuvent être différents ou identiques ou encore une sonde fluorescente ou radioactive.

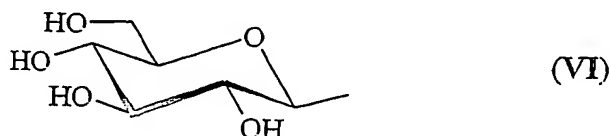
21. Composé selon la revendication 20, caractérisé en ce que R¹ représente OH.

22. Composé selon la revendication 20, caractérisé en ce que R¹ représente le groupe de formule :



23. Composé selon l'une quelconque des revendications 20 à 22, caractérisé en ce que n est égal à 1, en ce que X représente un atome d'hydrogène et en ce que R² et R³ représentent l'un des groupes suivants :

- le groupe α-D-mannopyranosyle, de formule (III) tel que défini dans la revendication 17, ou
- le groupe β-lactosyle, de formule (III-a) tel que défini dans la revendication 18, ou
- le groupe β-D-glucopyranosyle, de formule (VI) suivante :



R² et R³ pouvant être identiques ou différents.

24. Composé selon l'une quelconque des revendications 6 à 23, caractérisé en ce que m est égal à 6.

5 25. Complexe d'inclusion d'un composé selon l'une quelconque des revendications 6 à 24, avec une molécule pharmacologiquement active, le rapport molaire entre le composé selon l'une des revendications 6 à 24 et la molécule pharmacologiquement active étant avantageusement d'environ 50:1 à environ 1:1.

10 26. Complexe selon la revendication 25, caractérisé en ce que la molécule pharmacologiquement active est un agent antitumoral, appartenant notamment à la famille du Taxol.

15 27. Composition pharmaceutique comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 6 à 24, ou un complexe d'inclusion selon la revendication 25 ou 26, avec un véhicule pharmacologiquement acceptable.

28. Composition pharmaceutique selon la revendication 27, sous forme de solution aqueuse.

20 29. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 27 ou 28, caractérisée en ce qu'elle contient par dose unitaire d'environ 50 mg à environ 500 mg de l'un des composés selon l'une quelconque des revendications 6 à 24, ou en ce qu'elle contient par dose unitaire d'environ 100 mg à environ 750 mg de l'un des complexes selon l'une des revendications 25 ou 26.

25

1 / 1

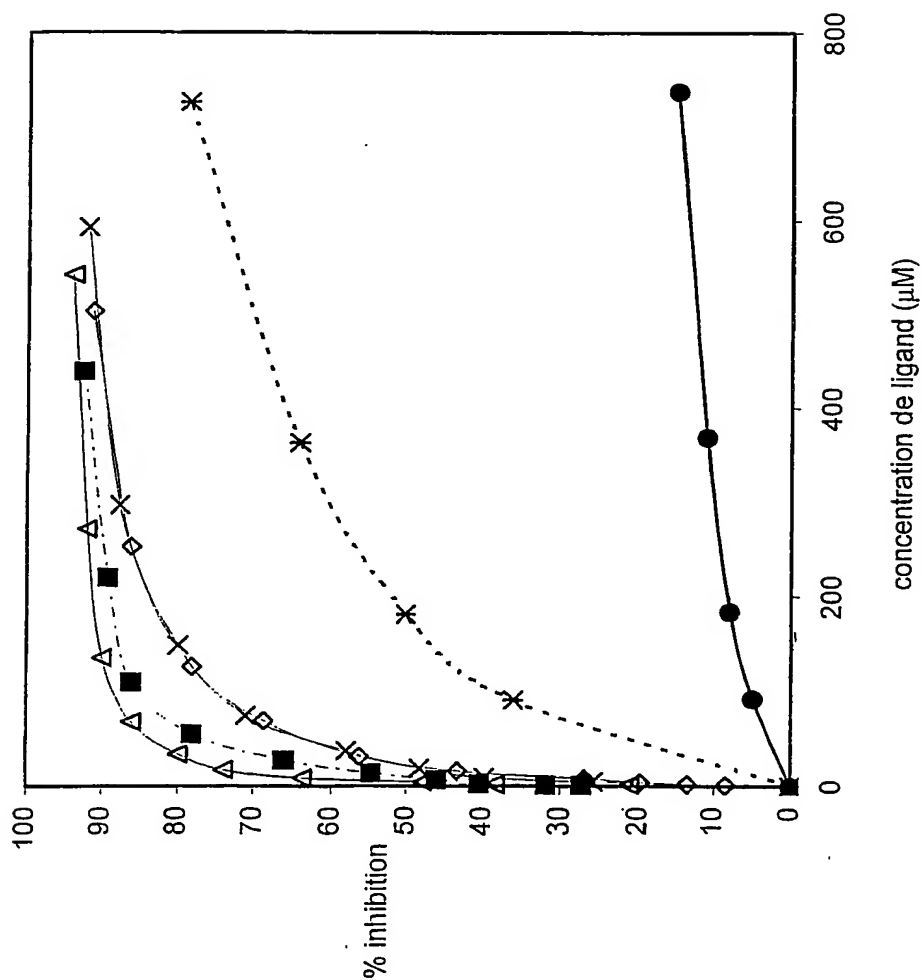


FIGURE 1

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/45032 A (KORPELA TIMO ; KHOMUTOV ALEXEI RADIEVICH (RU); KHOMUTOV RADII MIKHAILO) 10 September 1999 (1999-09-10) abstract page 1, line 1 - line 12 page 19; example VIII page 20 - page 21; example XI claim 11	1-3, 23, 25
A	----- WO 95/19994 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ; COSTE SARGUET ANNIE (FR); PERLI BRUNO) 27 July 1995 (1995-07-27) cited in the application claims	1
A	----- EP 0 403 366 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ; DARCY RAPHAEL (IE); UNIV DUBLIN (IE)) 19 December 1990 (1990-12-19) cited in the application claims	1
X	----- NOBUYOSHI AOKI ET AL.: "Gas chromatographic-mass spectrometric study of reactions of halodeoxycelluloses with thiols in aqueous solutions" CARBOHYDRATE POLYMERS, vol. 27, 1995, pages 13-21, XP004034456 GREAT BRITAIN page 15, left-hand column, line 15 - line 17	1
X	----- JUAN J. GARCIA-LOPEZ ET AL.: "Synthesis of cluster N-Glycosides based on a beta-cyclodextrin core" CHEM. EUR. JOURNAL, vol. 5, no. 6, 1999, pages 1775-1784, XP000828759 WEINHEIM page 1775, right-hand column, last paragraph page 1778 -----	6-29

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 9733919	A	18-09-1997	FR	2746103 A1	19-09-1997
			DE	69705033 D1	05-07-2001
			DE	69705033 T2	14-02-2002
			EP	0886654 A1	30-12-1998
			WO	9733919 A1	18-09-1997
			JP	2001500901 T	23-01-2001
			US	6080733 A	27-06-2000
WO 9945032	A	10-09-1999	FI	980489 A	05-09-1999
			AU	2627999 A	20-09-1999
			EP	1090041 A1	11-04-2001
			WO	9945032 A1	10-09-1999
WO 9519994	A	27-07-1995	FR	2715307 A1	28-07-1995
			WO	9519994 A1	27-07-1995
EP 0403366	A	19-12-1990	FR	2648464 A1	21-12-1990
			DE	69017091 D1	30-03-1995
			DE	69017091 T2	28-09-1995
			EP	0403366 A2	19-12-1990
			IE	902157 A1	02-01-1991

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C08B37/16 A61K47/48 A61K31/724

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C08B A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	NAGATA Y. ET AL.: "pH-Responsive Guest Binding of Polypeptide Containing a Cyclodextrin at the Terminal" BULL. CHEM. SOC. JPN, vol. 67, 1994, pages 495-499, XP0001161089 page 495, colonne de droite, ligne 23 - ligne 41	1-3,5-7
A	WO 97/33919 A (ORTIZ MELLET CARMEN ; GARCIA FERNANDEZ JOSE MANUEL (ES); DEFAYE JACQUE) 18 septembre 1997 (1997-09-18) cité dans la demande le document en entier	1-27

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

8 septembre 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

22/09/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lensen, H

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>WO 99/45032 A (KORPELA TIMO ; KHOMUTOV ALEXEI RADIEVICH (RU); KHOMUTOV RADII MIKHAILO) 10 septembre 1999 (1999-09-10) abrégé page 1, ligne 1 - ligne 12 page 19; exemple VIII page 20 - page 21; exemple XI revendication 11</p> <p>-----</p>	1-3, 23, 25
A	<p>WO 95/19994 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ; COSTE SARGUET ANNIE (FR); PERLI BRUNO) 27 juillet 1995 (1995-07-27) cité dans la demande revendications</p> <p>-----</p>	1
A	<p>EP 0 403 366 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ; DARCY RAPHAEL (IE); UNIV DUBLIN (IE)) 19 décembre 1990 (1990-12-19) cité dans la demande revendications</p> <p>-----</p>	1
X	<p>NOBUYOSHI AOKI ET AL.: "Gas chromatographic-mass spectrometric study of reactions of halodeoxycelluloses with thiols in aqueous solutions" CARBOHYDRATE POLYMERS, vol. 27, 1995, pages 13-21, XP004034456 GREAT BRITAIN page 15, colonne de gauche, ligne 15 - ligne 17</p> <p>-----</p>	1
X	<p>JUAN J. GARCIA-LOPEZ ET AL.: "Synthesis of cluster N-Glycosides based on a beta-cyclodextrin core" CHEM. EUR. JOURNAL, vol. 5, no. 6, 1999, pages 1775-1784, XP000828759 WEINHEIM page 1775, colonne de droite, dernier alinéa page 1778</p> <p>-----</p>	6-29

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Informations relatives aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR2004/000691

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9733919	A	18-09-1997	FR 2746103 A1	19-09-1997
			DE 69705033 D1	05-07-2001
			DE 69705033 T2	14-02-2002
			EP 0886654 A1	30-12-1998
			WO 9733919 A1	18-09-1997
			JP 2001500901 T	23-01-2001
			US 6080733 A	27-06-2000
WO 9945032	A	10-09-1999	FI 980489 A	05-09-1999
			AU 2627999 A	20-09-1999
			EP 1090041 A1	11-04-2001
			WO 9945032 A1	10-09-1999
WO 9519994	A	27-07-1995	FR 2715307 A1	28-07-1995
			WO 9519994 A1	27-07-1995
EP 0403366	A	19-12-1990	FR 2648464 A1	21-12-1990
			DE 69017091 D1	30-03-1995
			DE 69017091 T2	28-09-1995
			EP 0403366 A2	19-12-1990
			IE 902157 A1	02-01-1991